Tome 55, nº 32. — Décembre 1948.

Aus dem Zoologisch-vergleichend anatomischen Institut
der Universität Zürich

# Wachstum, Entwicklung und Unverträglichkeitsreaktionen bei Artchimären von Triton

von

**Heinz RUTZ**

Mit 27 Textabbildungen und 7 Tabellen.

## INHALTSÜBERSICHT

Seite

I. Problemstellung . . . . . 624

II. Material und Methodik . . . . . 625

III. Entwicklungsverlauf:

1. Embryonalentwicklung . . . . . 627
2. Larvale Entwicklung . . . . . 630
3. Zeitpunkt der Metamorphose . . . . . 632
4. Die Artspezifität der Wachstumsrate . . . . . 633
   *a*) Gesamtlänge . . . . . 635
   *b*) Rumpflänge . . . . . 635
   *c*) Kopfbreite . . . . . 638

IV. Unverträglichkeitsreaktionen:

1. Querchimären . . . . . 642
   *a*) Experimente 1945 . . . . . 642
   *b*) Experimente 1946 . . . . . 643
   *c*) Eintritt der Unverträglichkeitskrise . . . . . 644
   *d*) Histologische Untersuchung . . . . . 644
   *e*) Temperaturversuche . . . . . 652

2. Dorsoventrale Chimären . . . . . 655
*a*) Resultate der a/p Kombination . . . . . 655
*b*) Resultate der p/a Kombination . . . . . 657
*c*) Folgerungen . . . . . 659
3. Anhang: Parabiose-Experimente . . . . . 660
V. Diskussion . . . . . 663
VI. Zusammenfassung . . . . . 671
VII. Literaturverzeichnis . . . . . 673

## I. PROBLEMSTELLUNG [1]

Die vorliegende Arbeit wurde angeregt durch die Untersuchungen von Hadorn (1945*a*) über die Entwicklungsleistungen und Unverträglichkeitskrise der chimärischen Verbindungen zwischen *Triton alpestris* Laur. und *Triton palmatus* Tschudi. Nach diesen vorbereitenden Experimenten war bekannt, dass sich die Chimären sehr weit entwickeln, einzelne sogar die Metamorphose überstehen und ohne sichtbare Beeinträchtigung weiterleben. Die meisten jedoch erleiden kurz vor, während oder nach der Metamorphose eine schwere Krise, die zum Tode führt. Diese Krise, zweifellos eine Folge von Unverträglichkeitsreaktionen zwischen den artverschiedenen Körperteilen, äussert sich vor allem im Zustand des Kreislauf- und Nervensystems und bewirkt in vielen Fällen sehr starke Lähmungserscheinungen.

Humphrey und Burns (1939) haben ähnliche Versuche mit amerikanischen Urodelen *(Amblystoma tigrinum* und *Amblystoma punctatum)* durchgeführt. Auch in ihren Experimenten stellten sich zur Zeit der Metamorphose Störungen im Blutkreislauf sowie Lähmungserscheinungen ein. Die meisten Chimären starben schon innerhalb 48 Stunden nach Erscheinen der ersten Symptome. Die Schädigungen betrafen aber nur die *punctatum*-Regionen. Versuche mit Haut-Transplantaten sowie Hautsekreten von *tigrinum*-Tieren vermochten in normalen *punctatum*-Larven gleichartige Schädigungen zu erzeugen. Humphrey und Burns nehmen deshalb an,

[1] Meinem verehrten Lehrer, Prof. Dr. E. Hadorn, möchte ich an dieser Stelle für seine Mühe und Unterstützung während der ganzen Dauer der Arbeit meinen herzlichsten Dank aussprechen. Ebenso danke ich Herrn PD Dr. S. Rosin für seine Anleitung zu den statistischen Untersuchungen.

dass die Unverträglichkeitskrise durch einen Stoff hervorgerufen wird, der in der *tigrinum*-Haut produziert und sehr wahrscheinlich im Blut transportiert wird. Weitere bereits bekannte Ergebnisse werden weiter hinten diskutiert.

Meine Aufgabe bestand darin, die Experimente HADORNS in grösserem Umfange weiterzuführen. Dabei sollte die Sequenz der Erscheinungen eingehender untersucht und die Krise selbst möglichst genau analysiert werden. Darüber hinaus gestattete das umfangreichere Material eine einwandfreie Prüfung der Wachstums- und Metamorphoseverhältnisse.

## II. MATERIAL UND METHODIK

*Triton alpestris* (Alpenmolch) und *Triton palmatus* (Faden- oder Leistenmolch) unterscheiden sich schon als junge Larven ziemlich stark voneinander (FISCHBERG 1947). Die *alpestris*-Larve ist bedeutend grösser und ausserdem stärker pigmentiert als die *palmatus*-Larve. Die Rückenzeichnung der Adult-Tiere erscheint bei beiden bereits einige Wochen vor der Metamophose; beim Alpenmolch eine blauschwarze Marmorierung, beim Fadenmolch ein dunkelbraunes Band auf hellbraunem Grund (Abb. 6).

*Triton alpestris* ist auch im Mittelland die weitaus häufigste Molchart der Schweiz. Ihr Verbreitungsgebiet erstreckt sich von den Zentralalpen aus im Norden bis weit nach Deutschland hinein, im Süden bis nach Italien und in den Balkan. Im Gegensatz dazu ist *Triton palmatus* eine westeuropäische Form, die im Osten wohl noch wenig über die Rheingrenze hinausgekommen ist. In der Schweiz ist sie nördlich der Alpen bis zu einer Höhe von 850 m sehr häufig (GOELDI, 1914). Die beiden Species sind in der Natur völlig getrennt. Obwohl *Triton palmatus* in unserer Gegend fast stets nur in Gesellschaft von *alpestris*-Tieren gefunden wird (RUTZ, 1946), sind keine Bastardformen bekannt. Künstliche Bastard-Besamung von Ovidukt-Eiern gelingt in vitro, doch sind die Entwicklungsleistungen der reziproken Bastarde nicht genauer untersucht. Dagegen weiss man, dass merogonische Kombinationen der beiden Arten nur wenige Tage leben: *alpestris* (♀) × *palmatus* ♂ im besten Fall bis zum Schluss der Medullarwülste, *palmatus* (♀) × *alpestris* ♂ bis zu einem Stadium mit flachen Kiemenbuckeln, ca. 27 Mesodermsegmenten und erstem Pigment (BALTZER, 1940).

Die Adulttiere werden zu Beginn der Laichzeit (April) gefangen und in grossen Aquarien gehalten. Bei guter Pflege und Fütterung legen sie bis Ende Juni Eier ab. Diese werden vom Gras abgestreift und 15—30 Sekunden in 80% Alkohol sterilisiert, dann in einer frischen Schale mit sterilem Brunnenwasser gespült. Nach dieser Sterilisation dürfen alle Manipulationen bis zur ersten Fütterung der Larven nur in sterilen Gefässen und mit sterilen Instrumenten ausgeführt werden. In einer dritten Schale werden dann die Eier mit Hilfe einer Uhrmacherpincette und einer Pincettenschere aus der Gallerthülle befreit und bei einer Temperatur von 18 Grad aufgezogen. Bis nach Beendigung der Gastrulation (durchschnittlich 3 Tage) werden sie nun in einer geschlossenen Schale gehalten. Am Ende des zweiten Tages werden die *alpestris*-Keime mit Nilblausulfat vital gefärbt. Dies ermöglicht später eine genaue Kontrolle der Materialgrenzen.

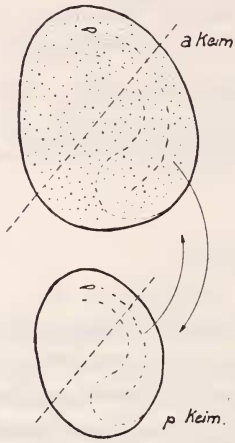


Abb. 1.

Operationsschema. Oben der grosse, vital gefärbte *alpestris*-Keim, unten der *palmatus*-Keim. In beiden Fällen liegt der Urmund oben, während die bereits angedeutete Neuralplatte nach rechts gedreht ist. Eine a-p Chimäre erhält die „Neuralhälfte" des a-Keims und die „Urmundhälfte" des p-Keims, ein p-a Tier entsprechend p-Vorderteil (Neuralteil) und a-Urmundhälfte.

Am dritten Tag sind die Embryonen meist soweit entwickelt, dass sie operiert werden können. Als beste Stadien erwiesen sich Endgastrula (senkrecht stehender Urmund) und beginnende Neurula (Erscheinen der dorsalen Medianrinne). Die Keime werden in einer Halbrundschale mit einer ca. 5 mm hohen Agar-Schicht unter dem Binokular operiert. Mit Hilfe eines heissen Glasknopfes werden Löcher von der Grösse einer Gastrula-Hemisphäre in die Agarschicht geschmolzen. Über den Agarboden kommt eine ca. 5—10 mm hohe Schicht von steriler Holtfreter-Lösung) [1]. Vor der Operation wird die Schale nochmals kurz mit dem Bunsenbrenner ausgeflammt. Dann werden mit der Pipette die beiden Keime ins Schälchen gebracht und mit Hilfe der Präpariernadel richtig orientiert, um falsche oder ungenaue Schnitte möglichst zu vermeiden. Der Schnitt (mit einem Platindrähtchen von 0,05 mm Durchmesser) von dorsal caudal nach ventral cranial wird rasch durchgeführt, damit man keine gefransten Schnittränder erhält und den Dotterverlust auf ein Minimum beschränken kann (Abb. 1). Mit Hilfe zweier Präpariernadeln werden nun die beiden Hälften des grössern *alpestris*-Keims in zwei passende Löcher der Agarschicht gebracht und die dazugehörigen

[1] Holtfreter-Lösung: 3,5 g NaCl, 0,05 gr KCl, 0,6 gr $CaCl_2$, 0,2 gr $NaHCO_3$, 1000 $cm^3$ aqua dest.

Teile des *palmatus*-Keims darübergestülpt. Wenn die *palmatus*-Keime zu klein sind, können sie, ohne dass man sie zerreisst, leicht mit den Nadeln ausgebreitet werden. Man vermeidet dadurch, dass ektodermlose Stellen entstehen, welche früher oder später meist gefährliche Infektionen, Blasen oder Wucherungen verursachen.

Zur Weiterentwicklung wurden die Keime am nächsten Tag aus der Operationsschale entfernt und einzeln in frische Schalen mit Agarboden gebracht. Auch für die Aufzucht wurde sterile Holtfreter-Lösung verwendet, diesmal aber auf ½ verdünnt. Sofern möglich, drehte ich schon wenige Stunden nach der Operation die Medullarplatte nach oben. Die bereits während der folgenden Nacht einsetzende Neurulation verlief so ungestörter.

Wir werden im Folgenden die *alpestris*-Teile immer mit *a*, die *palmatus*-Stücke mit p bezeichnen. Mit a-p wird ein Tier symbolisiert, das einen *alpestris*-Kopf und einen *palmatus*-Rumpf hat; eine p-a Chimäre dagegen besteht aus p-Vorderteil und *a*-Rumpf. Bei den dorsoventralen Chimären sind die Bezeichnungen entsprechend mit a/p und p/a (dorsaler/ventraler Partner) gewählt.

Als Grundlage für die Stadieneinteilung diente die Arbeit Glücksohn (1931), da sie vor allem für die erste Larvalzeit eine sehr genaue Untersuchung ermöglicht. Die für *Triton taeniatus* Leydig festgestellten Stadien dürfen auf *Triton alpestris* und *Triton palmatus* übertragen werden, da die Unterschiede gering sind und für unsere Untersuchungen keine Rolle spielen. S. Glücksohn schreibt in ihrer Arbeit selbst, dass sie *T.taeniatus* und *T. palmatus* nicht mit Sicherheit zu unterscheiden vermöge.

## III. ENTWICKLUNGSVERLAUF

### 1. Embryonalentwicklung.

Von entscheidender Bedeutung für die spätere Entwicklung ist der Verlauf der Neurulation. Das Neuralektoderm muss vollkommen glatt verheilen, es dürfen auf keinen Fall Dotterzellen zwischen den Wundrändern eingeklemmt werden. Sofern die Keime richtig zerschnitten und bei der Operation gut orientiert werden, entwickeln sie sich in den meisten Fällen sehr weit, wenn sie nicht einer Infektion zum Opfer fallen. Im ersten Jahr stieg die Infektionsrate mit höher werdender Aussentemperatur auf ein untragbares Mass, sodass für die Aufzucht später ein Thermostat (18 Grad) verwendet wurde. Trotz peinlicher Sauberkeit und Vorsicht ging auch dann noch ein Drittel aller Keime zugrunde.

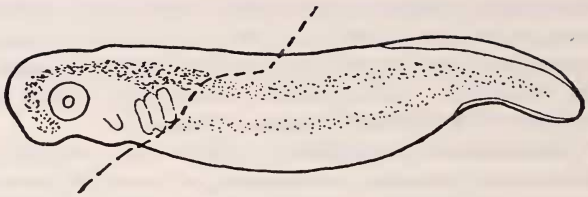

Abb. 2.
Verlauf der Materialgrenze (——) bei den Querchimären.

Abb. 3.
Reziprokes Chimärenpaar zur Zeit des Fressbeginns.
a-p Partner (rechts): 14 mm lang
p-a Partner (links): 15 mm lang.

Für das eigentliche Problem der Arbeit kamen die Tiere erst nach Beginn der Fütterung in Frage. Bei möglichst steriler und technisch guter Arbeit konnte man mit einer Erfolgsquote von 15—20% rechnen. Ein Drittel ging, wie oben bereits gesagt, infolge Infektion zugrunde. Rund 40% aller operierten Keime wurden zu Krüppeln: Ausser den oben erwähnten Neurulationsstörungen führten sehr oft kleine Ektodermlücken zu starken Wucherungen, oder es traten an besonders empfindlichen Stellen wie Nacken, Herz, Kiemen etc. Blasen auf. Überraschend gering waren die Verluste infolge nicht ganz genauer Schnittführung bei der Operation. Wenn zum Beispiel in der Rumpfregion ein kleinerer Materialdefekt oder ein geringes „Zuviel" entsteht, so können derartige Unregelmässigkeiten später noch leicht ausgeglichen werden. Nur 3—5% gehören zu diesen „Operationskrüppeln", bei denen meist eine harmonische Kopfausbildung fehlt. In seltenen Fällen zeigen die Tiere keinen Schnappreflex; andere schnappen den Bissen wohl, können ihn aber nicht schlucken, vermutlich infolge Abnormitäten in der Schlundgegend.

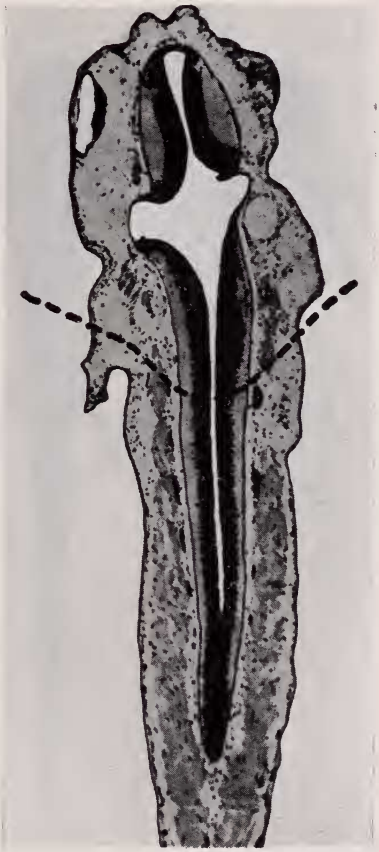

Abb. 4.

Frontalschnitt durch eine a-p Chimäre am Ende der Embryonalentwicklung (Stadium 46, Glücksohn). Die Verwachsungs- und Materialgrenzen sind nicht mehr zu erkennen (——). Vergrösserung 35×.

Während der Embyonalentwicklung verschmelzen die artverschiedenen Teile zu einer Einheit. Die Grenzen sind nicht einmal mehr im Schnittpräparat zu erkennen. Nur äusserlich unterscheiden sich Vorder- und Hinterteil noch durch Reste des Vitalfarbstoffes und Unterschiede in der Pigmentierung. Entsprechend der Schnittführung liegt die Verwachsungsstelle dorsal in der Vorderhälfte des Rückenmarks, ventral zwischen Vorderextremitätenbuckel und Kiemen. Die Abbildung 2 zeigt einen typischen Fall.

## 2. Larvale Entwicklung.

Die Abbildung 3 zeigt ein reziprokes Paar zur Zeit des Fressbeginns. Die abnorm werdenden Proportionen zwischen Kopf und Rumpf der Chimären sind unschwer zu erkennen, besonders deutlich bei der *a-p* Kombination. Im übrigen geben auch die Pigmentierungsunterschiede die Materialgrenzen an. Die Melanophoren der *a*-Haut erscheinen bedeutend grösser und ordnen sich bereits deutlich zu zwei Längsreihen.

Abb. 5.

Gleiches Chimärenpaar wie Abb. 3, vier Wochen nach Fressbeginn; Stadium 60, Glücksohn. Der Grössenunterschied ist sehr deutlich geworden.
a-p Partner (links): 24 mm lang
p-a Partner (rechts): 27,5 mm lang.

Aus einem Frontalschnitt durch eine *a-p* Chimäre am Ende der Embryonalentwicklung, Stadium 46 (Abb. 4), ist klar ersichtlich, dass das aus Teilen beider Arten hervorgegangene Zentralnervensystem zu einer Einheit geworden ist. Selbst bei stärkster Vergrösserung sind keine Grenzen zu erkennen.

Die Unterschiede in Grösse und Pigmentierung werden während der folgenden Wochen zunehmend deutlicher. Die Abbildungen 3, 5, 6 demonstrieren Wachstum und Entwicklung eines reziproken Paares bis über die Metamorphose hinaus. Schon mehrere Wochen vorher wird die larvale Färbung durch das Zeichnungsmuster des adulten Tieres resetzt. Die *p*-Teile

werden hellbraun (der Körper mit dunklen Zickzackstreifen), während die *a*-Bezirke die blauschwarze Marmorzeichnung annehmen.

Abb. 6.
Das gleiche Chimärenpaar wie Abb. 3 und 5. Beide Partner metamorphosiert und voll ausgefärbt, 190 Tage alt. Beide sind ca. 45 mm lang.

Wie wir später eingehender besprechen werden, treten kurze Zeit vor oder während der Metamorphose bei den meisten Tieren starke Störungen auf, vor allem Lähmungserscheinungen und lokal

begrenzte Stasen in der Blutbewegung. Bei der Mehrzahl führen sie zum Tode; nur wenige überstehen die Metamorphose. Solche Ausnahmetiere sind in der Abbildung 6 dargestellt.

Da die Analyse dieser Unverträglichkeitskrise zu meiner Hauptaufgabe wurde, soll sie in einem eigenen Abschnitt behandelt werden. Zunächst aber möchte ich eine Übersicht über die Zeit des Metamorphose-Eintrittes geben.

### 3. Zeitpunkt der Metamorphose.

Gleichzeitig mit den Chimären wurde auch eine Anzahl von Kontrolltieren unter denselben Zuchtbedingungen gehalten. Auch hier befanden sich in einer Schale nur zwei Tiere, und zwar je eine Kontrolle beider Arten. Als massgebenden Zeitpunkt wählte ich den Tag des An-Land-Gehens. Es ist zu erwarten, dass für die Metamorphose der Vorderteil mit Hypophyse und Schilddrüse die entscheidende Rolle übernimmt. Demnach müssten die a-p Chimären gleichzeitig mit den a-Kontrollen, die p-a Chimären mit den p-Kontrollen metamorphosieren.

Tabelle 1. — *Übersicht über die Metamorphosezeiten.*

| | Anzahl Tiere | Metamorphosealter (Tage) | | | Mittlere Differenz zu den Kontrollen |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Minimum | Mittel | Maximum | |
| a-Kontrollen | 7 | 87 | 120 | 130 | |
| p-Kontrollen | 4 | 53 | 55 | 57 | |
| a-p Chimären | 5 | 80 | 108 | 138 | — 12 |
| p-a Chimären | 7 | 61 | 73 | 86 | + 18 |

Die Metamorphosezeiten der beiden Kontrollen liegen recht weit auseinander; unsere Versuchsanordnung ist also ausserordentlich günstig (Tab. 1). Die statistische Prüfung (Tab. 2) ergibt denn auch einen einwandfreien Unterschied sowohl zwischen beiden Kontrollarten (1) als auch zwischen den beiden Chimärentypen (2). Aber auch zwischen den Chimären und den ihnen nicht entsprechenden Kontrollen (5 und 6) sind die Unterschiede gesichert. Die

TABELLE 2. — *Statistische Prüfung der Metamorphose-Differenzen.* (t-Test, vgl. LINDER, 1945).

| | | M | N | n | t | P | Resultat |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | a-Kontrollen<br>p-Kontrollen | 120<br>55 | 7<br>4 | 9 | 8,8 | < 1 ‰ | Unterschied |
| 2 | a-p Chimären<br>p-a Chimären | 108<br>73 | 5<br>7 | 10 | 3,2 | > 1 ‰ < 1% | Unterschied |
| 3 | a-Kontrollen<br>a-p Chimären | 120<br>108 | 7<br>5 | 10 | 1,13 | > 5% | Kein Unterschied |
| 4 | p-Kontrollen<br>p-a Chimären | 55<br>73 | 4<br>7 | 9 | 3,09 | > 1% < 5% | Suspect |
| 5 | a-Kontrollen<br>p-a Chimären | 120<br>73 | 7<br>7 | 12 | 6,69 | < 1 ‰ | Unterschied |
| 6 | p-Kontrollen<br>a-p Chimären | 55<br>108 | 4<br>5 | 7 | 4,07 | > 1 ‰ < 1% | Unterschied |

statistische Prüfung der Resultate gestattet den Schluss, dass der Kopfteil den Zeitpunkt der Metamorphose bestimmt (3 und 4). Theoretisch wäre es allerdings durchaus möglich, dass der a-Kopf, der für den grossen a-Körper 120 Tage benötigt, den kleinen p-Rumpf schon in kürzerer Zeit metamorphosiert, und umgekehrt der kleine p-Kopf für den grossen a-Körper mehr als 55 Tage braucht. Obschon sich ein solcher Einfluss des Rumpfes im Sinne einer Vor- oder Rückverschiebung der Metamorphose bei unserer kleinen Zahl von Tieren statistisch nicht nachweisen lässt, möchte ich doch darauf hinweisen, dass beide Mittelwerte für die Chimären in dieser theoretisch zu erwartenden Richtung abweichen. Die a-p Chimären benötigen 108 gegenüber 120 Tagen bei a-Kontrollen, die p-a Tiere 73 gegenüber 55 Tagen bei p-Kontrollen.

## 4. DIE ARTSPEZIFITÄT DER WACHSTUMSRATE.

Wie wir bereits feststellten, sind bei den Chimären die Proportionen zwischen Kopf und Rumpf deutlich verschieden von denjenigen der Kontrolltiere. Es fragt sich aber, ob Vorder- und Hinterhälfte mosaikartig, d. h. streng artgemäss weiterwachsen

oder ob die beiden Teile während des Larvenlebens derart aufeinander wirken, dass sich das Verhältnis immer mehr demjenigen der Normaltiere nähert. Die Chimären wurden deshalb von Stadium 46/47 (GLÜCKSOHN, Beginn der Fütterung) an während 10 Wochen je einmal pro Woche gemessen. Die Messung wurde in Chloreton-Narkose durchgeführt. Die Larven lagen in einer flachen Glasschale, unter die ein Objektmikrometer gelegt wurde. Die Binokular-Vergrösserung genügte zur genauen Messung bis $^1/_4$ mm. Die Abbildung 7 zeigt, welche Masse bestimmt wurden.

In den später angeführten Kurven der Mittelwerte (Abb. 8 und 9) sind auf der Abszisse die Stadien nach GLÜCKSOHN (1931), auf der Ordinate die dazugehörenden Durchschnittswerte in Millimetern aufgetragen. Zum bessern Verständnis der Kurven sollen einige der in Frage kommenden Stadien kurz charakterisiert werden.

TABELLE 3. — *Charakterisierung einiger Glücksohn-Stadien.* Entwicklungsverlauf bei einer Aufzuchttemperatur von 18 Grad.

| Stadium | Charakterisierung | Alter |
|---|---|---|
| 46 | Balancerreduktion abgeschlossen. Beginn der Fütterung. 3. Zehe des Vorderbeins zapfenförmig. Numerierung der Tage von der ersten Fütterung an. | 0 Tage |
| 48 | Anlagen der Hinterbeinknospen als kleine Höcker sichtbar | 6 Tage |
| 50 | Hinterbeinknospen sind caudal gerichtete kurze Zapfen, etwas länger als breit | 9 Tage |
| 52 | Am Hinterbeinzapfen erste Anlagen der Zehen 1 + 2 | 13 Tage |
| 54 | Zehenplatte an der fibularen Seite des Hinterbeines als grosse Ausbuchtung deutlich sichtbar | 16 Tage |
| 56 | Hinterzehen 1 und 3 ungefähr gleich lang, Zehe 2 doppelt so lang | 21 Tage |
| 58 | Hinterzehen 2 und 3 gleich lang, 1 und 4 bedeutend kürzer | 28 Tage |
| 60 | 5. Hinterzehe ist erschienen, ca. $^1/_3$ so lang wie die erste | 47 Tage |
| 61 | Hinterzehen 1 und 5 gleich lang, 2 und 4 etwas länger, 3 am längsten | 55 Tage |

Während der ersten Entwicklungsperiode werden also zwei bis drei Stadien in einer Woche durchlaufen, von denen aber nur eines durch die Messung erfasst wird (wöchentlich 1 Messung). Erst von 58 bis 61 sind die Intervalle von Stadium zu Stadium umgefähr eine Woche, d. h. gleich dem Messintervall. Da zwischen Stadium 61 und 62 eine Zeitspanne von mehr als 5 Wochen liegt, sind von Stadium 61 an auf der Abszisse nur mehr die Zeiteinheiten einer Woche (61 + 1, 2, 3, 4 Wochen) aufgetragen, nicht mehr eigentliche Glücksohn-Stadien.

a) *Gesamtlänge.*

Dieses Mass erwies sich als ungünstig, denn die an und für sich unwichtige Schwanzlänge variiert bei den Larven derart, dass sie bei der kleinen Anzahl von Tieren viel zu stark ins Gewicht fällt. Als entscheidendes Mass für die Hinterhälfte verwendete ich deshalb die Rumpflänge R.

b) *Rumpflänge.*

Erwartet man ein streng artgemässes Wachstum des Rumpfes, dann sollte die Kurve der a-p Chimären im wesentlichen mit derjenigen der p-Kontrollen und die Kurve der p-a Chimären mit derjenigen der a-Kontrollen übereinstimmen. Präzisiert man jedoch weiter und zieht in Betracht, dass das gemessene Stück jeweils im Vorderteil noch eine ganz kleine Partie des Kopfpartners umfasst (Abb. 2), dann müsste man annehmen, dass die Kurve der a-p Chimären unmittelbar über

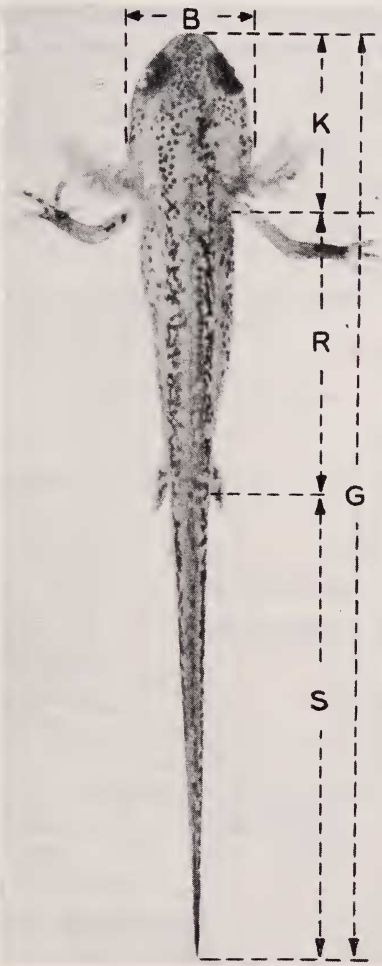


Abb. 7.
Für die Wachstumsuntersuchungen verwendete Masstrecken. B Kopfbreite, K Kopflänge, R Rumpflänge, S Schwanzlänge, G Gesamtlänge.

derjenigen der p-Kontrollen, die Kurve der p-a Chimären unmittelbar unter derjenigen der a-Kontrollen verlaufe. Der tatsächliche Kurvenverlauf entspricht dieser Erwartung in überraschend hohem Grade; doch müssen wir hier gleichzeitig berücksichtigen, dass die a-p Tiere mit ihren grossen Köpfen den kleinen p-Körper ohne

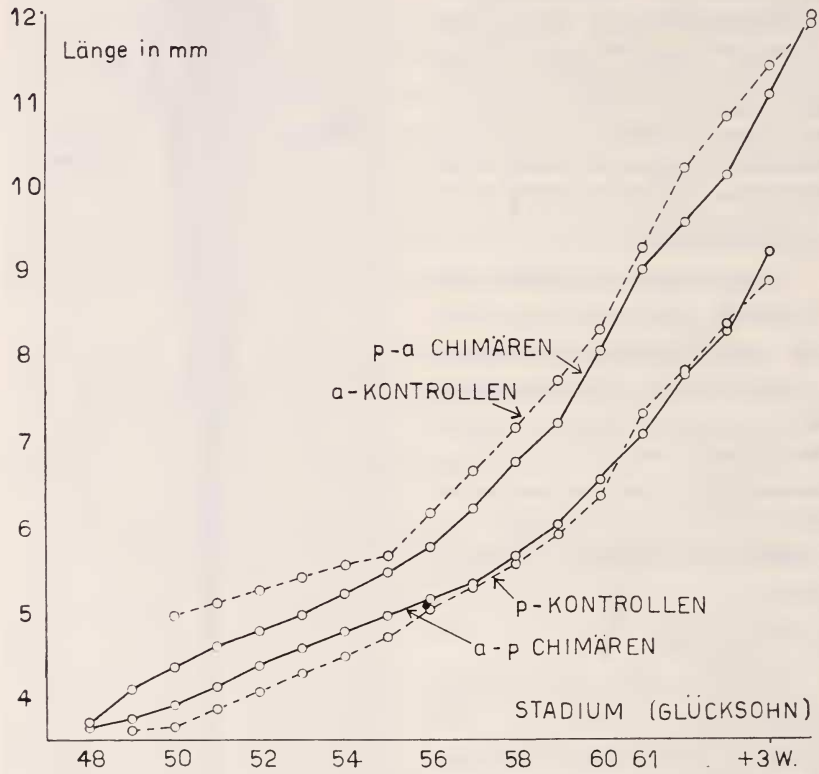


Abb. 8.
Rumpflänge. Kurven der Mittelwerte.

Schwierigkeiten, vielleicht sogar zu reichlich, ernähren können, während der grosse a-Körper am kleinen p-Kopf unter Umständen auch wegen ungenügender Ernährung etwas hinter den Kontrollen zurückbleibt.

*Statistische Prüfung.*

(t-Test, vergl. Linder, 1945.) Berücksichtigt man ausser den oben erwähnten Einflüssen auch die Möglichkeit, dass der chimä-

rische Organismus an sich schon weniger lebenskräftig sein kann als der normale, dann darf man zwar wohl zwischen a-p Chimären und p-Kontrollen eine Übereinstimmung erwarten (Materialgrenze und Ernährung begünstigen die Chimären, der chimärische Zustand vermindert dagegen eventuell die Körpergrösse), nicht aber zwischen p-a Chimären und a-Kontrollen, da sich hier alle drei Faktoren für die Chimären negativ auswirken.

Die Unterschiede in der Rumpflänge zwischen a-p Chimären und p-Kontrollen sind also auf dem gesamten praktisch in Frage kommenden Gebiet der Kurve nicht gesichert (Tab. 4). Das

TABELLE 4. — *Statistische Prüfung der Rumpflängen-Unterschiede zwischen* a-p *Chimären und* p-*Kontrollen* (t-Test).

| Unterschiede in der Rumpflänge zwischen a-p Chimären und p-Kontrollen | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Stadium | n | t | P | |
| 52 | 18 | 1,3 | > 5% | |
| 55 | 21 | 1,1 | > 5% | |
| 57 | 21 | 0,1 | > 5% | |
| 59 | 22 | 0,398 | > 5% | Keine gesicherten |
| 60 | 22 | 0,65 | > 5% | |
| 61 | 21 | 0,73 | > 5% | Unterschiede ! |
| + 1 W. | 19 | 0,104 | > 5% | |
| + 2 W. | 17 | 0,28 | > 5% | |
| + 3 W. | 9 | 0,854 | > 5% | |

TABELLE 5. — *Statistische Prüfung der Rumpflängen-Unterschiede zwischen* p-a *Chimären und* a-*Kontrollen* (t-Test).

| Unterschiede in der Rumpflänge zwischen p-a Chimären und a-Kontrollen | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Stadium | n | t | P | |
| 52 | 23 | 2,87 | > 1 ‰ < 1% | Gesicherter Unterschied |
| 55 | 23 | 1,14 | > 5% | |
| 57 | 23 | 2,08 | > 5% | Keine gesicherten |
| 59 | 23 | 1,7 | > 5% | Unterschiede ! |
| 60 | 23 | 1,07 | > 5% | |
| 61 | 22 | 0,37 | > 5% | |
| + 1 W. | 22 | 2,21 | > 1% < 5% | Suspect |
| + 2 W. | 21 | 2,19 | > 1% < 5% | |
| + 3 W. | 11 | 1,16 | > 5% | Kein Unterschied ! |

bedeutet, dass der *palmatus*-Rumpf seine artspezifische Wachstumsrate vollständig beibehält, obschon er mit dem artfremden *alpestris*-Kopf verbunden ist. Aber auch die

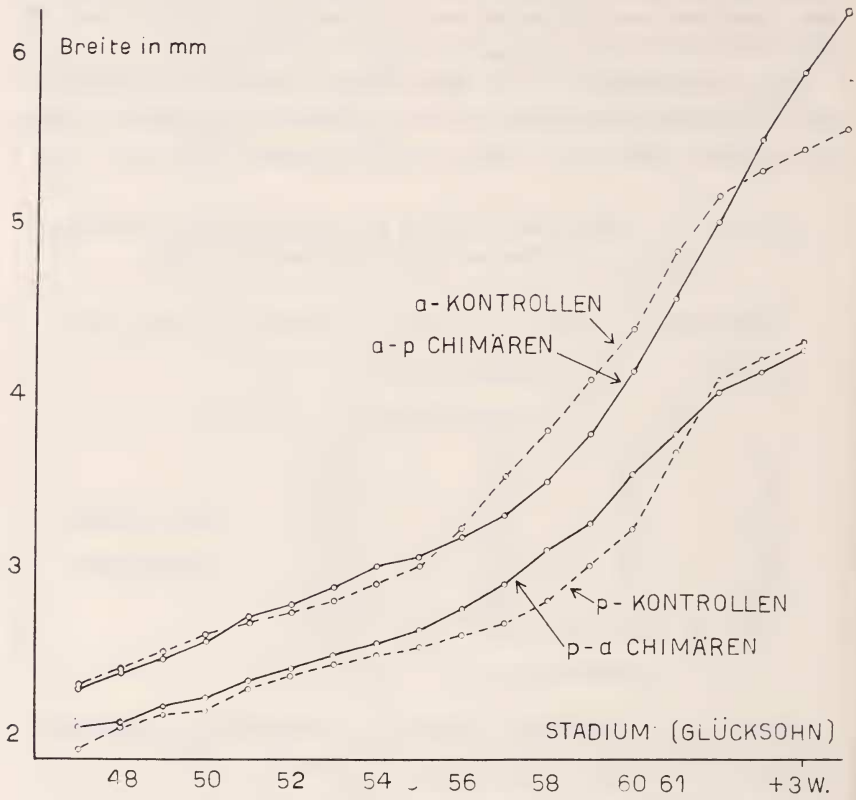


Abb. 9.
Kopfbreite. Kurven der Mittelwerte.

Resultate der Tabelle 5 gestatten uns wohl, unter Berücksichtigung der oben erwähnten Einflüsse, trotz der starken Abweichung auf Stadium 52 und trotz der beiden „suspect"-Resultate die Annahme eines unveränderten, artspezifischen Wachstums.

c) *Kopfbreite.*

Die hier gemessenen Teile sind entweder reine *alpestris*- oder reine *palmatus*-Stücke. Entsprechend den obigen Resultaten wäre

also zu erwarten, dass die Kurven der entsprechenden Tiere auch hier übereinstimmten. Die Abbildung 9 scheint auf den ersten Blick das erwartete Resultat zu bestätigen. Die statistische Prüfung ergibt jedoch für einige wenige Punkte gesicherte Differenzen, nach denen man eine Beeinflussung des Kopfes durch den Rumpf im Sinne einer normaleren Proportionierung vermuten könnte. Es ist aber nicht recht einzusehen, weshalb dieser Einfluss später wieder verschwindet.

TABELLE 6. — *Statistische Prüfung der Kopfbreiten-Unterschiede zwischen* a-p *Chimären und* a-*Kontrollen* (t-Test).

| Unterschiede in der Kopfbreite zwischen a-p Chimären und a-Kontrollen | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Stadium | n | t | P | |
| 49 | 14 | 0,329 | > 5% | Kein Unterschied ! |
| 52 | 25 | 0,53 | > 5% | |
| 55 | 27 | 1,04 | > 5% | |
| 57 | 27 | 2,71 | > 1% < 5% | Suspect |
| 59 | 28 | 2,9 | > 1% < 5% | |
| 60 | 28 | 1,9 | > 5% | Kein Unterschied ! |
| 61 | 27 | 1,93 | > 5% | |
| + 1 W. | 25 | 0,99 | > 5% | |
| + 2 W. | 23 | 1,01 | > 5% | |

Die beiden „suspect-Resultate" zwischen a-p Chimären und a-Kontrollen liessen sich auch hier durch den chimärischen Zustand an sich erklären. Dagegen bleibt es vorläufig eine offene Frage, weshalb die Köpfe der p-a Tiere während vier Stadien (57—60) breiter sind als diejenigen der entsprechenden Kontrollen, wenn wir nach den bisherigen Resultaten ein streng artspezifisches Wachstum beider Hälften annehmen. Möglicherweise handelt es sich um einen Einfluss der Blutversorgung, auf die der Kopf besonders leicht anspricht (HADORN, 1945*b*). Die überraschende Abweichung der a-p Chimären vier Wochen nach Stadium 61 ist dagegen bereits ein Zeichen der herannahenden Unverträglichkeitskrise, bei der die Köpfe vieler *a-p* Chimären eigenartig anschwellen.

Die statistische Prüfung zeigt, dass in der chimärischen Verbindung von *Triton alpestris* und *Triton palmatus* weder einer

Tabelle 7. — *Statistische Prüfung der Kopfbreiten-Unterschiede zwischen* p-a *Chimären und* p-*Kontrollen* (t-Test).

| Unterschiede in der Kopfbreite zwischen p-a Chimären und p-Kontrollen | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Stadium | n | t | P | |
| 49 | 6 | 0,56 | > 5% | Kein Unterschied ! |
| 52 | 17 | 0,79 | > 5% | |
| 55 | 17 | 1,41 | > 5% | |
| 57 | 17 | 3,55 | > 1‰ < 1% | Gesicherter Unterschied ! |
| 59 | 17 | 3,64 | > 1‰ < 1% | |
| 60 | 17 | 2,9 | > 1‰ < 1% | |
| 61 | 16 | 0,93 | > 5% | Kein Unterschied ! |
| + 1 W. | 16 | 0,67 | > 5% | |
| + 2 W. | 15 | 0,90 | > 5% | |

der beiden Partner noch die Vorder- oder Hinterhälfte eine dominierende Rolle in Bezug auf die Wachstumsrate übernimmt. Beide Teile wachsen im wesentlichen unbeeinflusst durch die artfremde Körperhälfte, d. h. artgemäss weiter.

*Diskussion der Wachstumsresultate.*

Harrison (1924) sowie R. K. und L. M. Burns (1928) haben Extremitäten heteroplastisch transplantiert. Für die Experimente wurden die grosse, langsam sich differenzierende Art *Amblystoma tigrinum* und die kleine, sich schnell entwickelnde Species *Amblystoma punctatum* verwendet. Das *punctatum*-Bein wird im *tigrinum*-Wirt grösser als ein normales *punctatum*-Bein, aber kleiner als dasjenige einer *tigrinum*-Kontrolle. Die *tigrinum*-Extremität dagegen entwickelt sich nach Transplantation in einen *punctatum*-Wirt dort so rasch, dass sie sogar bedeutend grösser wird als ein normales *tigrinum*-Bein. Harrison gibt für dieses unerwartete Resultat folgende Erklärung: Neben der Ernährung bestimmen zwei wichtige Faktoren die Extremitätengrösse, ein gewisses artspezifisches Grössenpotential G, grösser bei *tigrinum* (= t) als bei *punctatum* (= p) und ein Regulator R, grösser bei p als bei t. Der erste Faktor liegt in der Zelle selbst, der zweite wahr-

scheinlich im zirkulierenden Medium, beispielsweise als Hormon aus Hypophyse oder Thyreoidea.

$$G_t > G_p\,,$$
$$R_t < R_p\,,$$
$$G_t\,R_p > G_t\,R_t > G_p\,R_p > G_p\,R_t\,.$$

R. K. und L. M. Burns (1928) haben die Ergebnisse der Transplantationsversuche Harrisons bestätigt. Darüber hinaus versuchten sie den Einfluss des Regulators R in Parabiose-Experimenten zwischen den beiden Species nachzuweisen. Trotz genügender Verbindung der beiden Blutgefäss-Systeme lässt sich keine Wirkung des *punctatum*-Partners in der Weise feststellen, dass *tigrinum*-Tiere in heteroplastischer Parabiose grösser würden als normale *tigrinum*-Kontrollen.

Stone (1934) hat Chimären zwischen *Amblystoma tigrinum* und *punctatum* entsprechend den meinigen hergestellt. Seine Ergebnisse, über die er leider nur ganz kurz berichtet, lassen sich jedoch mit der Theorie Harrisons nicht in Übereinstimmung bringen. Stone gibt an, dass der normal kleine Vorderteil eine normale Grösse des sonst grossen Hinterteils verhindere und umgekehrt der normal grosse Vorderteil den sonst kleinen Hinterteil grösser werden lasse. Kopf, Thorax und Vorderbeine erreichen normale Artgrösse.

Nehmen wir an, dass der Regulator R im Vorderteil gebildet wird. Dann würde er die Proportionen noch abnormer gestalten; $R_p$ liesse den t-Rumpf noch stärker wachsen, mit dem schwächeren *tigrinum*-Regulator dagegen würde der *punctatum*-Körper noch kleiner. Betrachten wir auf der andern Seite den Fall, dass der Regulator im Hinterteil entsteht. Dann würde wohl der Rumpf normale Artgrösse erreichen, müsste aber den Kopf beeinflussen. Nach den Angaben Stones ist dies jedoch nicht der Fall.

Die Ausgangsverhältnisse im chimärischen Organismus unserer Experimente entsprechen denjenigen von Stone (1934) sowie denjenigen von Humphrey und Burns (1939). Das erblich festgelegte, artspezifische Grössenpotential G ist grösser bei *alpestris* (a) als bei *palmatus* (p). Dagegen bestünde zwischen den beiden hypothetischen regulierenden Faktoren endokrinen Charakters kaum ein nennenswerter Unterschied. *Alpestris*- und *palmatus*-Tiere differenzieren sich während der in Frage kommenden Zeit praktisch gleich schnell, auch wenn der *alpestris* bis zur Metamorphose bedeutend

mehr Zeit benötigt. Es wäre also nach der Theorie HARRISONS zu erwarten, dass sich, unter Annahme des mehr oder weniger gleich grossen R bei *alpestris* und *palmatus*, Vorder- und Hinterteil streng artgemäss entwickelten. Wie wir gesehen haben, stimmen unsere Resultate, im Gegensatz zu denen STONES, zum grössten Teil mit dieser Erwartung überein. Die Existenz eines regulierenden Faktors allerdings liesse sich hier nicht nachweisen.

## IV. UNVERTRÄGLICHKEITSREAKTIONEN

### 1. QUERCHIMÄREN.

a) *Experimente 1945.*

Vom Fressbeginn an wurden die Chimären zur genauen Kontrolle und maximalen Fütterung einzeln in kleinen Glasdosen gehalten, später je zwei in einer grössern Schale (12 × 4 cm Rundschale mit Deckel). Um den Tieren das An-Land-Gehen bei der Metamorphose zu ermöglichen, bauten wir schon Anfang Juli eine Sandrampe in die Zuchtschale ein.

Keine der mehr als 70 fressenden Larven zeigte vorerst irgendwelche Störungen. Der aus artverschiedenen Teilen zusammengesetzte Körper schien als Einheit zu funktionieren. Nur 3 Chimären starben während der ersten vier Wochen. Nach zwei Monaten trat dann plötzlich eine grundlegende Änderung ein. Im Verlaufe der nächsten drei bis vier Wochen starb der Grossteil aller operierten Tiere. Bei den einen erfolgte der Tod plötzlich, ohne dass vorher Schädigungen sichtbar gewesen wären, bei den andern traten Lähmungen und vor allem Störungen des Blutkreislaufes auf, besonders häufig in Kopf und Extremitäten. Das Blut floss nur noch langsam. In manchen Gefässen, oft ganzen Körperteilen, setzte der Kreislauf überhaupt aus. Die Gefässe waren überdies in vielen Fällen stark erweitert. Oft schien auch nur die Bewegungskoordination gestört; die Larven schwammen in Kreisen oder drehten sich fortwährend um die eigene Achse.

Zwölf Tiere überstanden die Metamorphose (5 a-p, 7 p-a Kombinationen). In keinem einzigen Fall hatten sich hier während der Larvalzeit Anzeichen einer Unverträglichkeitskrise bemerkbar gemacht. Drei der zwölf Chimären schienen jedoch unmittelbar nach dem An-Land-Gehen von einer derartigen Störung betroffen; sie starben wenige Tage nachher. Die übrigen neun lebten nach der Metamorphose alle noch 1½ bis 7 Monate weiter, ohne dass ähnliche Symptome wieder erschienen.

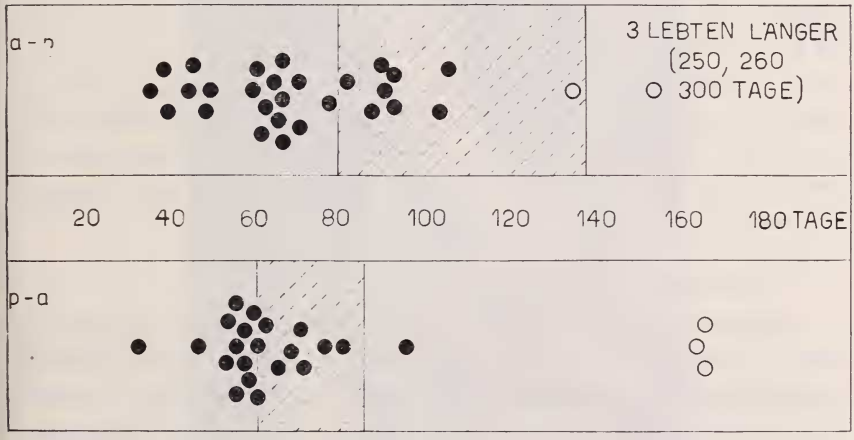


Abb. 10.
Absterbetabelle der Querchimären.

● Tod vor der Metamorphose
O Tod nach der Metamorphose
Schraffierte Fläche: Zeit der Metamorphose für die betreffende chimärische Kombination (a-p: 80—138 Tage; p-a: 61—86 Tage).

b) *Experimente 1946.*

Während des zweiten Versuchsjahres wurden noch einmal 36 Querchimären aufgezogen, und zwar 18 a-p und 18 p-a Tiere. Die Unverträglichkeitskrise trat zur gleichen Zeit wie im Vorjahre ein. Wieder war sie äusserlich gekennzeichnet durch Lähmungen und heftige Blutungen. Am stärksten waren diese Erscheinungen bei drei p-a Tieren. Schon von blossem Auge sichtbar, schimmerte im Kopf eine ausgedehnte Gehirnblutung durch. Trotz des zweifellos starken Blutaustrittes schwammen aber die Larven munter in der Schale umher und reagierten auf die leiseste Berührung. Die Ausdehnung, die solche Blutungen erreichen können, zeigen die

Abbildungen 18—20. Auch im zweiten Jahr starb jedoch wieder eine ganze Reihe von Tieren, ohne dass vorher irgendwelche Störungen sichtbar gewesen wären.

c) *Eintritt der Unverträglichkeitskrise.*

Abbildung 10 vermittelt eine Übersicht über den Zeitpunkt des Absterbens. Bei beiden Kombinationen tritt die Unverträglichkeitskrise kurz vor oder während der Metamorphose (schraffierte Fläche) ein. Nur wenige metamorphosierte Tiere leben noch längere Zeit weiter. Die Krise scheint also in Zusammenhang mit der Metamorphose zu stehen. Prinzipiell bestehen die beiden Möglichkeiten, dass sie entweder durch einen Stoff hervorgerufen wird, der zu dieser Zeit im Körper entsteht, oder aber es wird der Körper während der in Frage kommenden Periode besonders empfindlich und reagiert auf einen Stoff, der schon vorher vorhanden war.

d) *Histologische Untersuchung.*

Hadorn (1945*a*) fand bei der histologischen Untersuchung seiner Chimären, die noch lebend, aber auf dem Höhepunkt der Unverträglichkeitskrise oder kurz nach dem Tode fixiert worden waren, eine weitgehende bis vollständige pyknotische Zelldegeneration im vordern und mittlern Zentralnervensystem. Er weist darauf hin, dass es sich keineswegs um eine blosse postmortale Veränderung handeln könne, da die Degeneration auch bei jenen Tieren festgestellt wurde, deren Blutzirkulation noch in normalem Gange war. Auf Grund dieser Befunde wurde angenommen, dass das Zentralnervensystems besonders empfindlich auf die im Blute kreisenden Unverträglichkeitsstoffe reagiere und dass durch die Zelldegeneration im Nervensystem die beobachteten Lähmungserscheinungen verständlich würden.

Leider waren im ersten Jahre nur wenige meiner Tiere lebend fixiert worden, sodass ich die Frage nach der Bedeutung der pyknotischen Kerne im Zentralnervensystem vorerst nicht mit Sicherheit zu beantworten vermochte. Die Verklumpungen des Chromatinmaterials waren aber bei tot fixierten Tieren viel zahlreicher als bei lebend fixierten. Die Vermutung, dass es sich mindestens zum Teil um postmorale Vorgänge handle, lag nahe; doch bestand die Möglichkeit, dass bei den lebend fixierten Chimären nicht der Höhe-

punkt der Krise festgehalten werden konnte und deshalb die Kerndegenerationen noch nicht sichtbar waren. Gegen die Wahrscheinlichkeit dieser Erklärung sprach allerdings das Auftreten zahlreicher Pyknosen bei tot fixierten a- und p-Kontrolltieren.

Während des zweiten Sommers untersuchte ich jede Chimäre vor ihrer Fixierung sehr genau unter dem Binokular. Es inter-

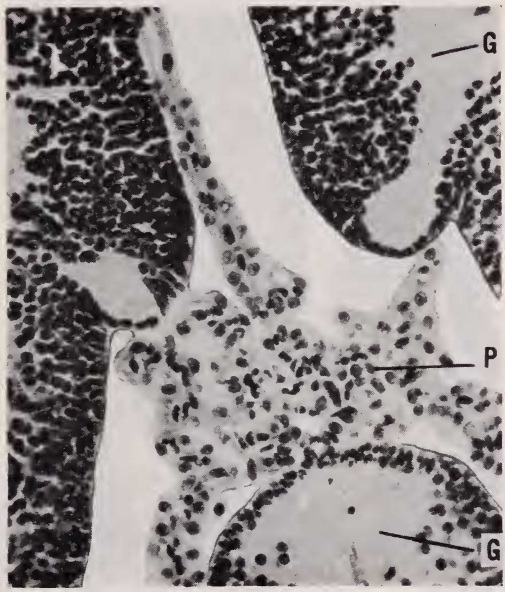


Abb. 11.
Gehirn (G) und Plexus chorioideus (P) einer als Kontrolle fixierten Chimäre. Alle Kerne sind gesund. Vergr. 160×.
Diese sowie die übrigen photographischen Abbildungen sind leicht überzeichnet.

essierten mich vor allem die Schäden im Zirkulationssystem. Die histologische Untersuchung zeigte dann, dass die Frage nach dem Auftreten der Pyknosen, ob prae- oder postmortal, nicht entschieden werden kann, bevor man sich über die Definition der Zustände „lebend“ oder „tot“ Klarheit verschafft hat. Einige Abbildungen sollen die Bedeutung dieses Entscheides veranschaulichen.

Bei Chimären, die als Kontrollen lebend fixiert wurden, also nie irgendwelche Reaktionen gezeigt hatten, lassen sich keine

pyknotischen Kerne im Zentralnervensystem erkennen. Sowohl Gehirn als auch Rückenmark erweisen sich als absolut normal (Abb. 11). Dasselbe Resultat erhalten wir jedoch auch bei vollständig gelähmten Tieren, aber nur dann, wenn das Blut noch im ganzen Körper mit normaler Geschwindigkeit zirkuliert (Abb. 12). Dagegen finden wir im Gehirn von gelähmten Tieren, deren Blut wohl

Abb. 12.
Gehirn einer gelähmten Chimäre mit intaktem Blutkreislauf. Alle Kerne sind gesund. Vergr. 35×.

noch bis in alle Extremitäten fliesst, deren Herzfrequenz jedoch bis auf wenige Schläge pro Minute gesunken ist, bereits eine grössere Zahl pyknotischer Kerne (Abb. 13). Die Degeneration des Chromatinmaterials scheint zu diesem Zeitpunkt sehr schnell vor sich zu gehen, denn unmittelbar nach dem Stillstand der Blutzirkulation, während das Herz noch schlägt, zeigen die Schnittpräparate nur noch wenige gesunde Kerne, vor allem in unmittelbarer Nähe der Ventrikel (Abb. 14). Die Retina erscheint noch völlig unverändert. Fixieren wir kürzere oder längere Zeit nach dem Tod, dann steigt die Zahl der Pyknosen noch weiter an. Die

Abb. 13.
Gehirn einer gelähmten Chimäre mit stark verlangsamtem Blutkreislauf. K Kernpyknosen. Vergr. 200×.

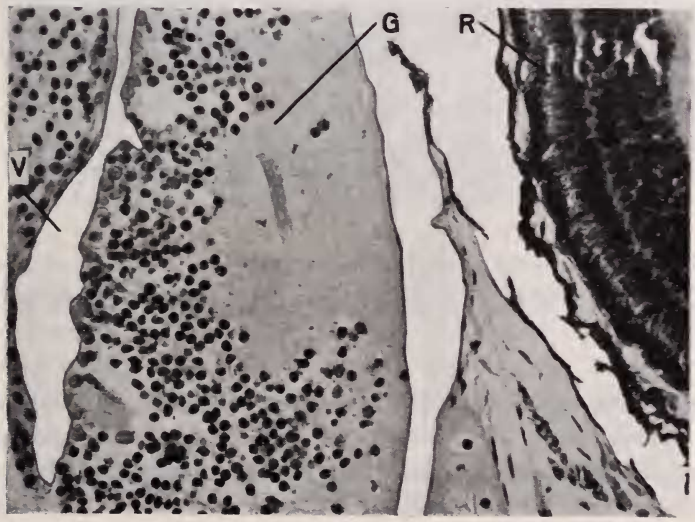


Abb. 14.
Gelähmte Chimäre, fixiert nach Stillstand der Blutzirkulation. G Gehirn, R Retina, V Ventrikel. Vergr. 165×.

Verklumpungen treten in diesem Falle nicht nur bei Chimären, sondern auch bei nicht-operierten Kontrolltieren auf. Auch hier werden die Kerne der an die Ventrikel grenzenden Zellen zuletzt betroffen (Abb. 15).

Der Einfluss der Blutzirkulation soll durch die Abbildungen 16 und 17 nochmals besonders deutlich dargestellt werden. Die beiden

Abb. 15.
Gehirn einer a-Kontrolle, 4 Stunden nach gewaltsamem Tod fixiert. V Ventrikel. Vergr. 150×.

betreffenden Chimären sind genau gleich alt. Die erste war im Gleichgewicht stark gestört, aber nicht eigentlich gelähmt. Die Blutzirkulation war im ganzen Körper mit normaler Geschwindigkeit intakt. Das Rückenmark dieses Tieres erscheint histologisch normal (Abb. 16). Die zweite Chimäre wurde ebenfalls noch in „lebendem" Zustande fixiert. Sie war vollständig gelähmt; es floss kein Blut mehr, das Herz schlug aber noch. Nur wenige Kerne um den Zentralkanal sind gesund, alle andern pyknotisch (Abb. 17).

Die Folgerungen, die sich aus den vorstehenden Abbildungen ergeben, sind:

1. Ausschlaggebende Bedeutung kommt der Durchblutung zu. Sobald diese aus irgend einem Grunde gestört ist, dürfen wir das Gewebe nicht mehr als lebensfrisch bezeichnen. Für unsere histologische Prüfung spielt also nicht der Zustand „lebend“ oder „tot“ des Indi-

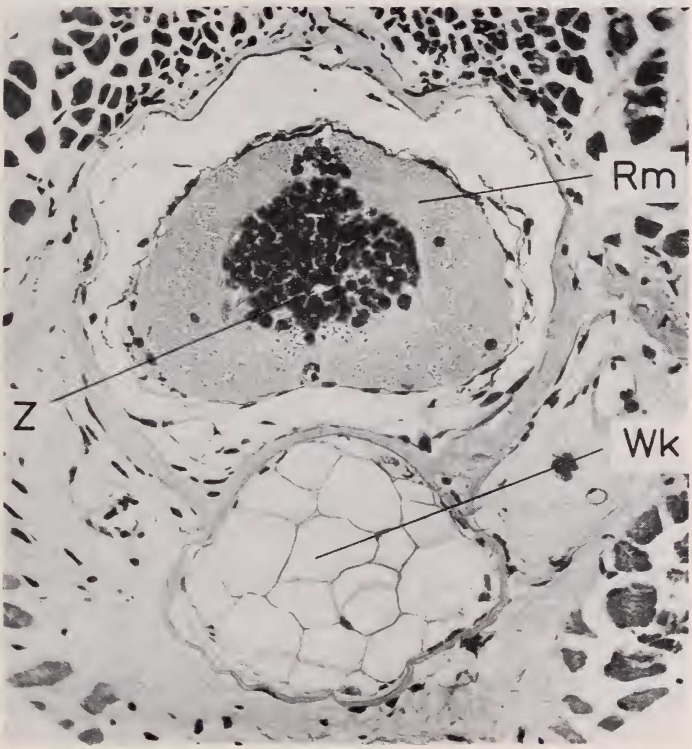


Abb. 16.
Histologisch normales Rückenmark einer im Gleichgewicht gestörten Chimäre mit intaktem Blutkreislauf. Wk Wirbelkörper, Rm Rückenmark, Z Zentralkanal. Vergr. 170×.

viduums als solchen die entscheidende Rolle, sondern die Blutversorgung des betreffenden Gewebes. Dieses kann bereits „postmortale“ Veränderungen erleiden, während andere Organe des Körpers noch voll funktionstüchtig sind. Wir unterscheiden also zwischen dem „Tod“ des Individuums an sich und dem „Partialtod“ einzelner seiner Organe.

2. Die empfindlichsten und deshalb zuerst betroffenen Zellen sind diejenigen des Zentralnervensystems. Die Pyknosen in Gehirn und Rückenmark sind aber nicht direkte Wirkungen der Unverträglichkeit, sondern Folge-

Abb. 17.
Pyknosen im Rückenmark einer gelähmten Chimäre nach Stillstand der Blutzirkulation. Wk Wirbelkörper, Rm Rückenmark mit Kernpyknosen, Z Zentralkanal. Vergr. 160×.

erscheinungen einer gestörten Blutversorgung, die ihrerseits allerdings durch Unverträglichkeit verursacht wird.

3. Die Ventrikelflüssigkeit vermag wahrscheinlich die an sie grenzenden Zellen noch kurze Zeit am Leben zu erhalten, da die Kerne der Wandzellen erst später degenerieren.

4. Das nächste betroffene Gewebe ist die Retina. Während aber das Gehirn vier Stunden nach dem Tode bereits stark ge-

schädigt ist, erweist sich die Retina in diesem Zeitpunkt noch als gesund.

5. Verstreicht zwischen Tod und Fixierung eine Zeit von einem Tag oder mehr, dann sind auch die Kerne der übrigen Gewebe geschädigt.

Die Interpretation HADORNS (1945*a*) muss also insofern modifiziert werden, als der Organismus als Gesamtheit wohl in diesem

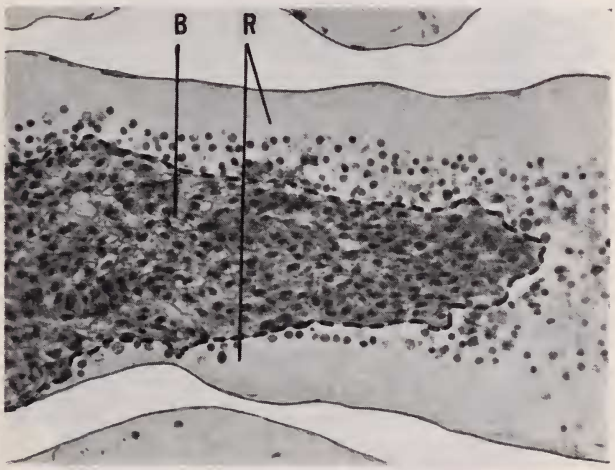


ABB. 18.
Riesiger Blutzapfen (B) im Rückenmark (R). Vergr. 170×.

Zeitpunkt noch lebt, die Veränderungen in diesem Sinne deshalb als nicht postmortal betrachtet werden dürfen. Das Gewebe selbst aber erleidet dieselben Schädigungen, die wir dann beobachten, wenn wir durch einen gewaltsamen Tod alle Funktionen gleichzeitig zum Stillstand bringen.

Die vielen, zum Teil schon von blossem Auge sichtbaren Blutungen liessen sich im mikroskopischen Präparat einwandfrei nachweisen. In manchen Fällen erreichten sie beträchtliche Ausmasse, vor allem im Gebiete des Zentralnervensystems. Zwei charakteristische Fälle sind in den Abbildungen 18—20 dargestellt.

Abbildung 18: Riesiger Blutzapfen im vorderen Rückenmark einer p-a Chimäre. Die Larve wies starke Blutstauungen in Kopf

und Extremitäten auf, die schon nach einem Tag zum Tode führten. (Pyknotische Kerne, da tot fixiert.)

Abbildungen 19 und 20: Bei dieser p-a Chimäre schimmerte auf der ganzen Länge des Gehirns eine ausgedehnte Blutung durch, während im übrigen Körper der Kreislauf intakt war. Das mikroskopische Bild zeigt wieder einen starken Blutaustritt, verbunden

Abb. 19.
Starke Ventrikelausweitung und heftige Blutung in den Ventrikeln selbst. (p-a Chimäre). Vergr. 34×.

mit Ausweitung der Ventrikel. Auch das Rückenmark schien fast vollkommen zerstört zu sein. In den Lücken des auseinandergerissenen Gewebes lagen kleinere und grössere Blutklümpchen. Trotz dieser ungewöhnlich starken Schädigungen waren aber auch in diesem Falle keine Lähmungserscheinungen aufgetreten. Die Chimäre schwamm und frass im Zeitpunkt der Fixierung (kurz vor der Metamorphose) noch ohne jede sichtbare Störung.

e) *Temperatur-Versuche.*

Die Resultate des ersten Jahres liessen einen Einfluss der Aussentemperatur in dem Sinne vermuten, dass die Unverträglichkeitskrise mit steigender Temperatur nicht nur in ihrem Erscheinen beschleunigt würde, sondern ausserdem für die Chimäre

schwerwiegendere Folgen hätte. In ganz extremer Weise vermochte TWITTY (1937) die Auswirkungen einer Temperatursteigerung bei heteroplastischer Embryonal-Transplantation von *Triturus*-Haut auf *Amblystoma* zu zeigen. Die Lähmung des Wirtes wurde schon wenige Minuten nach Herabsetzung der Temperatur von Zimmer-

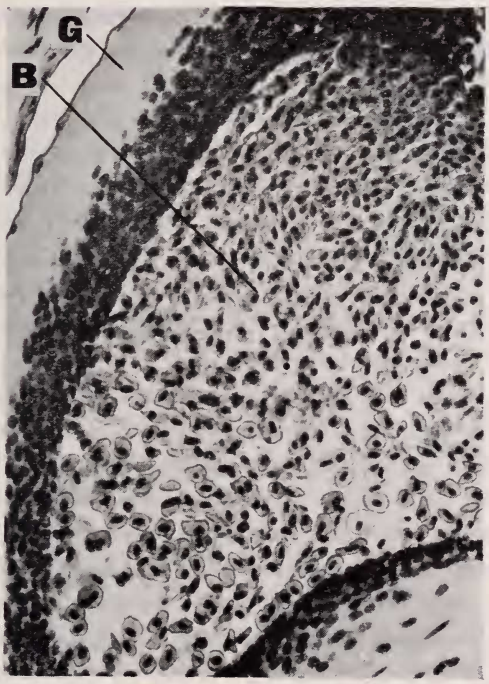


ABB. 20.
Gleiches Tier wie Abb. 19. Stärkere Vergrösserung des rechten Seitenventrikels. B Blutung, G Gehirnwandung. Vergr. 165×.

wärme auf 8 Grad vollständig aufgehoben, stellte sich aber kurze Zeit nach Zurückbringen ins Zimmer wieder ein.

Ich setzte deshalb in zwei Schalen je drei p-a Chimären einer Wärme von 28 Grad (Stufenthermostat) aus, und zwar während derjenigen Zeit, da im Vorjahre die meisten Tiere gestorben waren, d. h. 50—70 Tage nach Fressbeginn. Gleichzeitig hielt ich auch je fünf Kontrolltiere beider Arten unter denselben Bedingungen. Das Ergebnis war insofern überraschend, als sämtliche Chimären die

hohe Temperatur ohne weiteres ertrugen, sodass ich nach mehr als vier Wochen die Versuche einstellte. Von den zehn Kontrollen starb am ersten Tage ein *palmatus*-Tier, das ersetzt wurde. Alle übrigen zeigten wie die Chimären keine Schädigungen. Drei p-Larven metamorphosierten sogar.

Trotz des unerwarteten Resultates mit den p-a Tieren wiederholte ich später die Experimente mit vier a-p Chimären. Bei allen war die Adult-Zeichnung der Haut bereits deutlich; sie standen zweifellos kurz vor der Metamorphose. Die Versuchsanordnung blieb dieselbe. Wiederum wurde je eine Schale mit Kontrolltieren in den Thermostaten gestellt. Diesmal war das Ergebnis ein ganz anderes. Schon nach sechs Stunden war ein Tier vollständig gelähmt. Das Herz schlug noch, aber es floss kein Blut mehr. 22 Stunden nach Versuchsbeginn waren zwei weitere Larven gestorben, während das letzte Tier nach 28 Stunden fixiert wurde. Es war ebenfalls gelähmt, doch waren Herztätigkeit und Zirkulation noch intakt, wenn auch sehr langsam.

Die kleine Zahl von nur 10 Versuchstieren gestattet es nicht, den Resultaten grössere Bedeutung beizumessen, besonders, weil auch nicht alle Kontrollen die hohe Temperatur ertrugen. Es scheint, dass sie bei den unmittelbar vor der Metamorphose stehenden a-p Chimären eine Krise auszulösen vermochte, die von keinem Tier überstanden wurde. Die Tatsache, dass die p-a Chimären vier Wochen lang ohne Schädigung aushielten, ist vor allem deshalb eigenartig, weil ausgerechnet diese 6 Tiere am Leben blieben, während von insgesamt 17 p-a Chimären 8 innerhalb der betreffenden Zeitspanne starben oder wegen Unverträglichkeit fixiert werden mussten. Bei der histologischen Prüfung der vier a-p Larven konnte ich nur bei zweien eine pathologische Veränderung finden. Beim einen ist die Wandung des Mittelhirns an einer Stelle zerrissen, eine grössere Blutung ist entstanden. Beim andern ist im Rückenmark eine ganz geringe Blutung sichtbar.

Zusammenfassend kann also gesagt werden, dass die Temperaturexperimente wohl auf den ersten Blick eindeutige Resultate in dem Sinne ergeben haben, dass hohe Temperaturen bei a-p Chimären eine sehr rasch zum Tode führende Unverträglichkeitskrise hervorrufen, während die p-a Larven eine Wärme von 28 Grad mehrere Wochen lang ohne Schädigung auszuhalten vermögen. Die geringe Zahl von Versuchstieren verbietet uns aber, diese Resultate

als genügend gesichert zu betrachten, da auch von den Kontrollen einige im Thermostat zugrunde gingen.

## 2. Dorso-ventrale Chimären.

Da Hadorn (1945*a*) die Lähmungserscheinungen mit den festgestellten Kerndegenerationen im Zentralnervensystem in Verbindung brachte, untersuchte ich im zweiten Jahr nicht nur das Problem der Kernpyknosen an sich besonders genau, sondern stellte ausserdem eine Reihe von dorsoventralen Kombinationen der gleichen Arten her. Diesmal liefert der dorsale Partner sämtliches Neural-, Chorda- und Mesodermmaterial, während der ventrale Teil aus fast dem gesamten Hautektoderm und Entoderm besteht. Das Nervensystem ist also in dieser Kombination nicht mehr chimärisch, sondern wird vom dorsalen Partner allein geliefert. Tritt eine Unverträglichkeitskrise ein, welche das Zentralnervensystem in Mitleidenschaft zieht, dann ist diese Schädigung sicher nicht durch den artverschiedenen Aufbau an sich bedingt, wie er bei den Querchimären besteht.

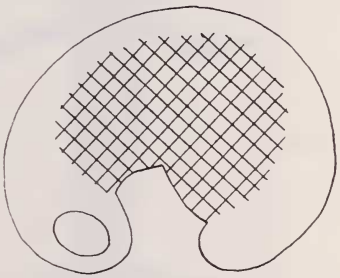

Abb. 21.
Materialgrenzen bei den Dorsoventral-Chimären. (2 Tage nach der Operation).

Die Operation ist etwas schwieriger als bei den Querchimären. Als günstigstes Stadium erwies sich die beginnende Neurula kurz vor dem Erscheinen der Wülste. Abbildung 21 zeigt die ungefähre Verteilung der artverschiedenen Materialien nach der Neurulation. Auch diese Chimären entwickelten sich anfänglich gut. Schon von Anfang an wurden Grösse und Zeichnung ausschliesslich vom dorsalen Partner bestimmt, obschon er nur die Haut des Kopfes und des medianen Rückenstreifens liefert. Die Melanophoren aus der Ganglienleiste vermögen sich also auch unter artfremder Epidermis ungestört auszubreiten (Abb. 22).

### a) *Resultate der* a/p *Kombination.*

Schon nach 31, bzw. 36 Tagen traten bei zwei Tieren Lähmungen auf, sodass ich beide fixierte. Es liessen sich in den Schnitten keine pathologischen Veränderungen nachweisen. Erst

nach 108 Tagen stellten sich bei einer der verbliebenen Larven Störungen ein. Die Epidermis löste sich am Rumpf in grossen Blasen ab, in die zum Teil auch Blut ausgetreten war. Die grösste

Abb. 22.

a/p Dorsoventralchimäre (105 Tage alt). Die Materialverteilung entspricht genau Abb. 21. Trotzdem mindestens zwei Drittel der embryonalen Haut vom p-Keim stammen, stimmt die Zeichnung mit derjenigen der a-Kontrollen überein. Das Tier ist ca. 40 mm lang.

Abb. 23.

a/p Dorsoventralchimäre. Die Epidermis löst sich in grossen, zum Teil blutunterlaufenen Blasen ab. Die grösste Blase, unmittelbar hinter dem linken Vorderbein, ist bereits eröffnet. Vergr. 4,5×.

Blase wurde eröffnet (Abb. 23) und das Tier weiter gut kontrolliert. Zwei Tage später waren die Blasen verschwunden, das Aussehen wieder normal geworden. Die Chimäre reagierte gut auf Berührung, schwamm aber immer nur einige Male in der Schale hin und her und blieb dann unter eigentümlichen Zuckungen in der hintern Rumpfhälfte und im Schwanz liegen. Nach einem weitern Tag war der Körper von der Rumpfmitte an vollständig gelähmt und re-

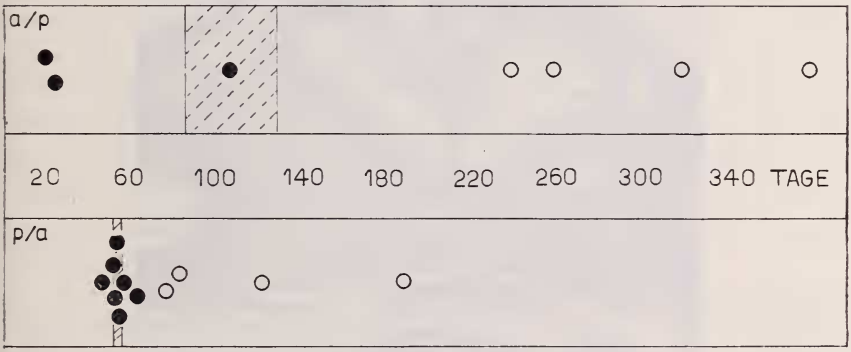


Abb. 24.
Absterbetabelle der Dorsoventralchimären.
● Tod vor der Metamorphose
○ Tod nach der Metamorphose
Schraffierte Fläche: Zeit der Metamorphose für unoperierte a- bzw. p-Kontrolltiere.

agierte nicht mehr auf mechanische Reize. Das Tier vermochte nicht mehr zu schwimmen. Der Blutkreislauf war aber noch überall mit normaler Geschwindigkeit intakt.

Von den vier verbleibenden a-p Tieren zeigte keines irgendwelche Störungen; drei metamorphosierten. Zwei starben mit ca. 250 Tagen ohne Zeichen einer Unverträglichkeit, die beiden letzten mit 320, bzw. 380 Tagen, ebenfalls ohne dass jemals eine Krise sichtbar geworden wäre.

b) *Resultate der* p/a *Kombinationn.*

Während bei den a/p Tieren keine eigentliche kritische Zeit beobachtet werden konnte, starben hier 7 von 11 Tieren innerhalb 2½ Wochen, und zwar mit 48, 53, 54, 55, 56, 59, 65, Tagen. Das durchschnittliche Metamorphosealter für p-Kontrollen betrug während der ersten Saison (1945) unter annähernd gleichen Be-

dingungen 55 Tage, sodass wir hier sicher von einer Krise kurz vor oder während der Metamorphose sprechen dürfen. Die vier überlebenden Tiere metamorphosierten alle, starben aber kurze

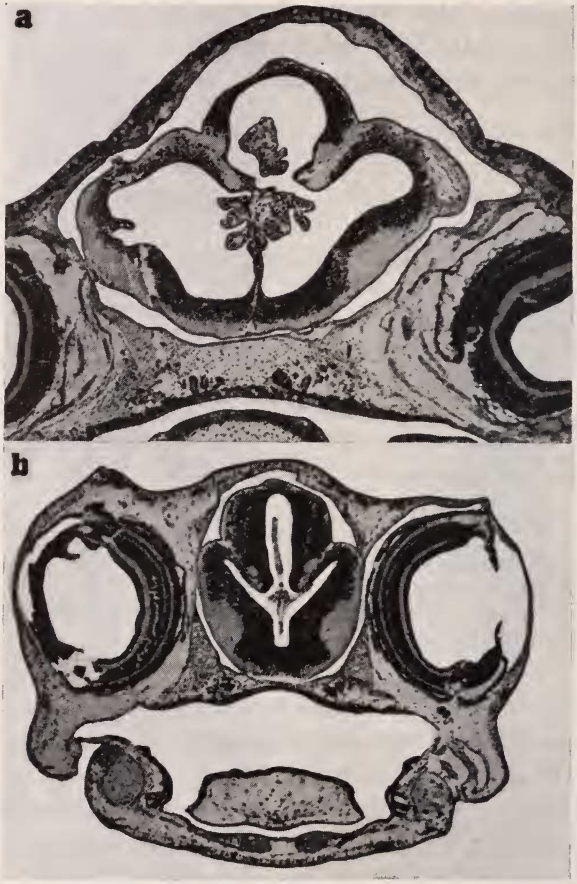


Abb. 25.

*a*) „Kopfbeule", entstanden durch starke Ausweitung der Gehirnventrikel (p/a Chimäre). Vergr. 30×.

*b*) Gleiche Gehirnregion bei einem normalen Kontrolltier. Vergr. 30×.

Zeit später ebenfalls, das älteste mit 190 Tagen. Abbildung 24 vermittelt einen Überblick über den Zeitpunkt des Absterbens (entsprechend Abb. 11 für die Querchimären). Es scheint nur für p/a Kombination eine kritische Phase zu bestehen, doch darf hier

nicht ausseracht gelassen werden, dass die Anzahl der Tiere, vor allem bei der Kombination a/p, relativ klein ist.

Bei acht dieser p/a Chimären trat eine merkwürdige Missbildung auf, eine mehr oder weniger starke Ausbeulung des Kopfes, vor allem zwischen den Augen. Zuerst glaubte ich, dass diese Beule eine Folge der Unverträglichkeit sein müsse, doch zeigten sich bei einer grossen Zahl von p-Kontrollen (ca. 20) genau dieselben Störungen. Vielleicht stehen sie mit der Gefangenhaltung und der einseitigen Ernährung in Zusammenhang. Allerdings wies 1945 keine der *palmatus*-Kontrollen diese Kopfbeule auf. Die Erscheinung betraf nur p/a Chimären, p-Kontrollen und in ganz geringem Masse auch p/a Chimären, nie aber a-Kontrollen, a/p oder a-p Chimären. Die Schnitte zeigten, dass diese Kopfbeulen tatsächlich die Folge von Ventrikelausweitungen waren und nicht nur Ausbuchtungen des Kopfes ohne Beteiligung des Gehirns darstellten (Abb. 25).

Trotz der riesigen Ausbeulungen wies keine der p-Kontrollen irgendwelchen Blutaustritt in die Ventrikel auf. Auch Gleichgewichts- und andere Störungen traten nicht ein. Die Kontrollen mit Kopfbeule metamorphosierten gleichzeitig mit den „normalen" Kontrolltieren. Ganz andere Resultate ergab jedoch die Prüfung der Chimären. War schon die Unverträglichkeitskrise äusserlich genau so wie bei den Querchimären verlaufen, so zeigte auch die mikroskopische Untersuchung die gleichen Veränderungen. Wieder waren es kleinere oder grössere Blutungen, vor allem im Bereiche des Zentralnervensystems, während die Gewebe selbst bei allen lebend fixierten Tieren unverändert erschienen.

c) *Folgerungen.*

Zusammenfassend kann also über die dorsoventralen Kombinationen folgendes gesagt werden:

1. Bei den dorsoventral zusammengesetzten Chimären erweist sich der dorsale Partner insofern als dominant über den ventralen, als er Körpergrösse, Zeichnung und Zeitpunkt der Metamorphose bestimmt. Die Chimären können nicht von den Kontrolltieren des dorsalen Partners unterschieden werden. Auch auf Schnitten sind die Materialgrenzen nicht mehr zu erkennen, da *alpestris*- und *palmatus*-Epidermis gleich gebaut sind (siehe auch Hadorn, 1936).

2. Die Unverträglichkeitskrise stellt sich auch bei diesen Chimären kurz vor oder während der Metamorphose ein, doch scheint sie für die a/p Kombination bedeutend weniger schwerwiegend zu sein als für die p/a Tiere. Ihr Erscheinen beweist jedoch, dass nicht das chimärische Nervensystem an sich die Ursache der mannigfachen Störungen seiner Funktionen bei den Querchimären ist.

3. Die Krise äussert sich genau so wie bei den Querchimären, d. h. es treten Lähmungserscheinungen und Störungen im Blutkreislauf auf. Die Schnittpräparate lassen diese Blutungen ohne weiteres erkennen, geben aber ebenfalls keine Anhaltspunkte über die Ursache der Lähmungen.

## 3. Anhang: Parabiose-Experimente.

Einige zu weit entwickelte Keime benützte ich zu zwei Parabiose-Experimenten. Hadorn (1945, unveröffentlicht) hat solche mit den gleichen Arten durchgeführt und dabei festgestellt, dass bei Vereinigung von a- und p-Partner im letztern Unverträglichkeitsreaktionen auftreten. Zum Teil werden sie überwunden, zum Teil aber führen sie ebenfalls zum Tode. Es interessierte mich nun, ob in einer Kombination von einem *alpestris*- mit zwei *palmatus*-Partnern trotzdem die Fadenmolche die „Unterlegenen" seien, die Unverträglichkeit also sicher qualitativ und nicht quantitativ bedingt ist.

Im ersten Versuche hingen die Tiere von der Kiemengegend bis fast zu den Hinterbeinen aneinander. Es frass nur der *alpestris*. Sehr bald reagierten die beiden p-Tiere nur noch schwach auf Berührung. Ihre Köpfe schwollen an und bekamen ein völlig unproportioniertes Aussehen. Bei einem der beiden schimmerte überdies eine kleine Blutung durch. 55 Tage nach der Operation fixierte ich diese Tiere. Der Blutkreislauf war noch vollkommen intakt, beide p-Partner hingen aber bewegungslos am grossen *alpestris*-Tier.

### Histologische Untersuchung.

Die Schnittpräparate ergaben einerseits die Bestätigung der Blutung des einen p-Tieres, andererseits bewiesen sie, dass die aufgeblähten Köpfe die Folge von ausserordentlichen Ausweitungen

der Hirnventrikel waren und nicht nur Ausbeulungen der Bindegewebskapsel ohne Beteiligung des Gehirns darstellten (Abb. 26). Überraschenderweise zeigt das Gehirn keine Pyknosen.

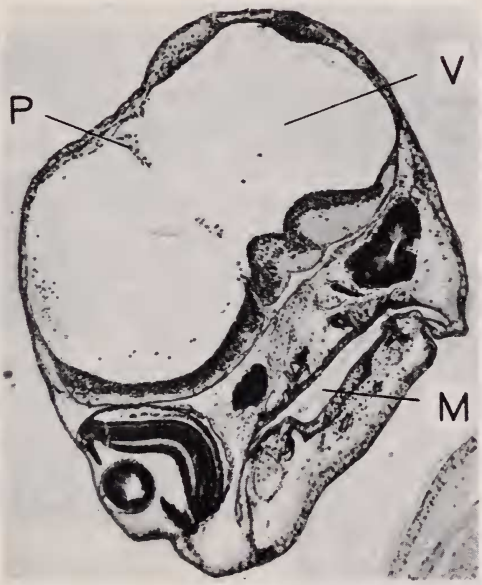


Abb. 26.
Ausweitung der Ventrikel und kleinere Blutung im Kopf des einen p-Partners der Parabiose. M. Mundhöhle, P Reste des Plexus chorioideus, V Ventrikel (Links mit einigen Blutzellen). Vergr. 35×.

Eigenartig ist der Bau des Rückenmarks bei einem der beiden p-Partner. Auf der Höhe des Labyrinthes liegt im Wirbelkanal lediglich eine ungeordnete, flache Masse von Neuralgewebe (Abb. 27*a*). Unmittelbar hinter dem Kiemenansatz wird die Grösse des Rückenmarkquerschnittes wieder normal. Die Anordnung der Kerne stimmt jedoch mit derjenigen der Normaltiere keineswegs überein (Abb. 27*b*). Erst im Rumpf treffen wir wieder das gewohnte Bild des Rückenmarks mit Zentralkanal (Abb. 27*c*). Dieser Befund überrascht deshalb, weil die Operation ja erst nach Beendigung der Neurulation ausgeführt wurde. Es scheint also, dass schon eine frühere Unverträglichkeitsreaktion beim p-Partner ausgelöst wurde, die zur Degeneration von Neuralgewebe führte. Es kann aber nicht entschieden werden, ob diesmal der Zerfall von Neuralmaterial

eine direkte Wirkung der Unverträglichkeit ist, was die Interpretation HADORNS stützen würde, oder wiederum eine Folgeerscheinung wie im Falle der früher besprochenen Pyknosen. ROTH (1945), der Neuralmaterial zwischen *Triton alpestris* und

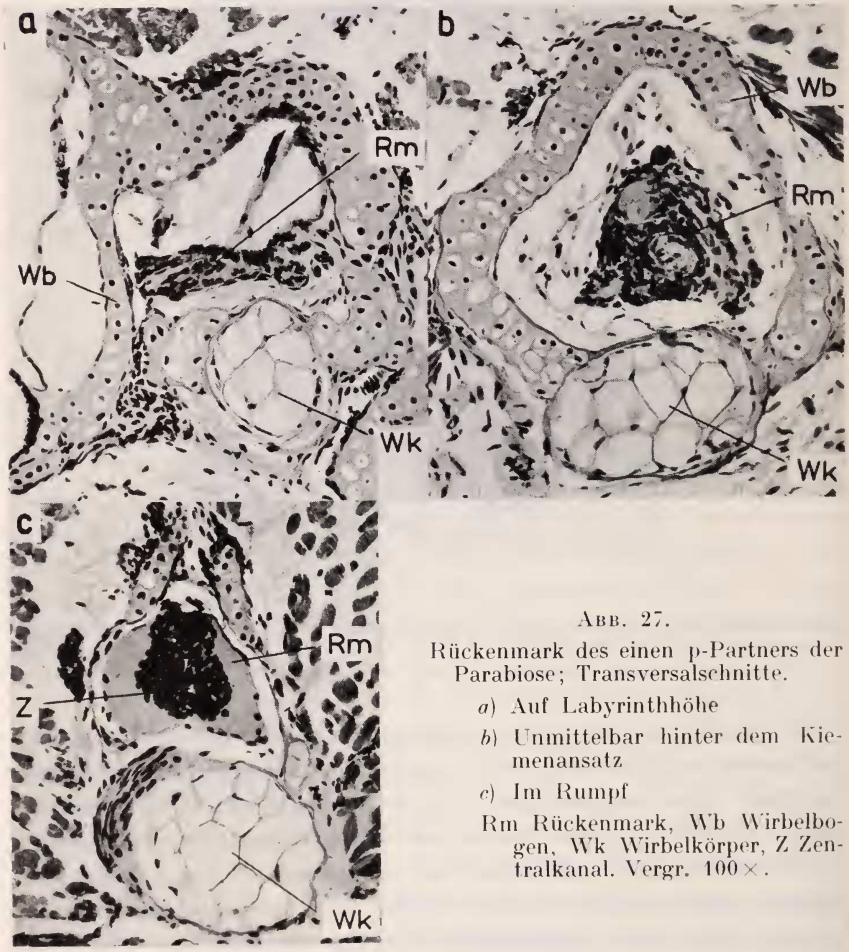


ABB. 27.
Rückenmark des einen p-Partners der Parabiose; Transversalschnitte.
*a*) Auf Labyrinthhöhe
*b*) Unmittelbar hinter dem Kiemenansatz
*c*) Im Rumpf
Rm Rückenmark, Wb Wirbelbogen, Wk Wirbelkörper, Z Zentralkanal. Vergr. 100×.

*Bombinator pachypus* austauschte, erhielt nach der Degeneration transplantierter Rückenmarksabschnitte ähnliche Bilder.

Die zweite Parabiose-Kombination wurde (ohne zu metamorphisieren) bis zu ihrer Fixierung ca. 450 Tage alt. Alle drei Tiere blieben äusserlich vollkommen normal und reagierten auf

mechanische Reize. Es frass nur die eine der beiden p-Larven, doch war der Magenraum gemeinsam und es wurden alle drei Darmsysteme benützt. Alle Tiere blieben sehr klein, doch machten sich nie irgendwelche Störungen bemerkbar. Im Gegensatz zur ersten Kombination war die Verwachsungsstelle, auf der Höhe des Magens, hier nur sehr kurz, es bestanden also zweifellos nur wenige Gefäss-Anastomosen.

*Folgerungen.*

Die beiden Experimente sprechen zum mindesten nicht dafür, dass die Unverträglichkeit quantitativ bedingt ist. Sie lassen jedoch vermuten, dass das Ausmass der Gefässverbindungen zwischen den artverschiedenen Partnern eine Rolle spielt. Selbstverständlich ist es nicht möglich, dies aus den Resultaten der zwei einzigen Versuche abzuleiten, doch haben die Parabiosezwillinge von Prof. Hadorn (unveröffentlicht), der mit denselben Arten arbeitete, die gleichen Ergebnisse gezeitigt.

## V. DISKUSSION

Wachstum und Metamorphose wurden schon auf Seite 632 und 640 diskutiert. Im folgenden Kapitel sollen deshalb nur noch die Probleme der Unverträglichkeitsreaktionen eingehender besprochen werden. Nachdem es gelungen war, beliebige Teile eines Amphibienkeims auf einen andern Keim zu übertragen, zeigte es sich sehr bald, dass sich die transplantierten Gewebe nur bei homoplastischen Kombinationen unbeschränkt, d. h. auch im spät larvalen und Metamorphosealter entwickelten. Heteroplastische Transplantate wurden in sehr vielen Fällen durch den Wirt zerstört oder vermochten sogar ihrerseits den Wirt mehr oder weniger zu schädigen. Schwind (1937) transplantierte Augenanlagen von *Rana sylvatica*, *Rana palustris* und *Rana pipiens*. Bei homoplastischer Verpflanzung vermochten sich die meisten Transplantate zu halten, obschon die mikroskopische Prüfung eine mehr oder weniger starke Lymphocyten-Konzentration in ihrer Umgebung ergab. Demgegenüber degenerierten beinahe sämtliche heteroplastisch verpflanzten Anlagen innerhalb kurzer Zeit. Auf den Schnitten waren jetzt nicht nur Lymphocyten, sondern auch grössere Leukocyten-An-

sammlungen sichtbar. Es ist also offensichtlich, dass der Organismus auf implantierte Stücke eines Organismus zu reagieren vermag. Er erkennt nicht nur „das Fremde", sondern auch den Grad der Fremdheit. Steigt dieser, dann steigt auch die Stärke der Reaktion.

Horowitz (1937) beschrieb die rasche Degeneration von Muskeltransplantaten, die zwischen zwei *Triturus*-Arten *(T. viridescens* und *T. pyrrhogaster)* ausgetauscht wurden. Hadley (1929) erhielt entsprechende Resultate für Epidermisstücke von *Rana pipiens* und *Rana clamitans*. Ganz extreme Reaktionen beobachtete Hitchcock (1939) nach Verpflanzung von *Triturus*-Hautstücken in die Lymphsäcke von *Rana pipiens*. Die Unverträglichkeit war so stark, dass der Wirt schon nach wenigen Stunden zugrunde ging.

Andres (1945, 1946) und Roth (1945), beides Schüler von Prof. Baltzer, haben im Berner Zoologischen Institut Neuralmaterial, Epidermis und Derivate der Neuralleiste zwischen *Bombinator* und *Triton* xenoplastisch ausgetauscht. Alle transplantierten Gewebe gingen in charakteristischer zeitlicher Reihenfolge zugrunde. Selbst der *Bombinator*-Knorpel, der sich am längsten erhielt, schien die Metamorphose im Molchwirt nicht überstehen zu können.

Sehr viele embryonale Transplantationsversuche wurden auch von italienischen Biologen angestellt. Sie zeigten vor allem die grosse Bedeutung des Dotters bei hetero- und xenoplastischer Vereinigung. In vielen Fällen entschied sogar der Eidotter direkt über Verträglichkeit oder Unverträglichkeit (Cotronei und Perri, 1937). Auch hier folgte die Zerstörung der transplantierten Gewebe nicht immer direkt auf die Übertragung, sondern setzte je nach Wahl der Arten, Dottergehalt und Temperatur früher oder später ein (Spirito, 1932; Perri, 1932). Schwanzknospen zum Beispiel erlagen den Einflüssen des neuen biochemischen Mediums oft erst am Ende der Embryonalentwicklung, nachdem sie sich anfänglich sehr gut differenziert hatten (Reverberi, 1939).

Loeb (1937) diskutiert in seiner Arbeit „The biological basis of individuality" diese hohe Spezifität des Einzelindividuums. Er glaubt, dass der Wirt mit seiner Reaktion auf die fremden Gene antwortet, die er nicht besitzt, d. h. er antwortet auf das, was jene fremden Gene gebildet haben. Die Unmöglichkeit jeder Voraussage der Reaktionsstärke, sogar bei Homo- und Syngenesio-(= Geschwister)-Transplantation lässt es deshalb wahrscheinlich erscheinen, dass eine sehr grosse

Zahl von Genen, vielleicht sogar alle, in irgend einer Weise für dieses „Individualitätsdifferential" verantwortlich sind. Diese Spezifität braucht aber trotzdem nicht in allen Geweben und Organen gleich stark ausgebildet zu sein; Keratin, Linsenfasern, verschiedene Hormone und Vitamine z. B. besitzen sie nicht.

Nach Loeb bestehen im Einzelorganismus normale physiologische Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Organen. Erst der Transport stimulierender oder hemmender Substanzen ermöglicht seine Einheit. Eine Anzahl dieser Stoffe ist spezifisch und bedingt die Individualität; die Wechselwirkung zwischen den Organen wird dann am effektivsten, wenn diese spezifische Substanz in allen Geweben dieselbe ist. Der Organismus wäre also ein unteilbares Ganzes, in dem nicht nur die Organfunktionen, sondern auch alle Organe ohne funktionelle Verbindung wenigstens spezifisch aufeinander abgestimmt sind. Nicht nur jede Art, sondern sogar jedes Individuum besitzt seine chemischen Charakteristika, welche es von jedem andern Individuum der selben Art unterscheiden. Wenn nun diese Stoffe im Körper kreisen und das Gleichgewicht innerhalb der verschiedenen Gewebe desselben Organismus bedingen, ist es sehr wahrscheinlich, dass sie auch nach der Transplantation frei werden und dann das Gleichgewicht des Wirtes stören. Diese Annahme vermöchte zu erklären, weshalb bei Autotransplantation, also bei identischen spezifischen Substanzen, Bindegewebe und Blutgefässe dem Transplantat „entgegenwachsen", während Homo- und Heterotransplantate in den meisten Fällen bekämpft werden.

In unsern Experimenten stellten wir nun fest, dass eine chimärische Verbindung von *Triton alpestris* und *Triton palmatus* wohl nach gelungener Operation die Embryonal- und auch einen Grossteil der Larvalzeit ohne Beeinträchtigung der Lebensfähigkeit übersteht, dann aber in der Mehrzahl der Fälle einer Unverträglichkeit ihrer artverschiedenen Teile zum Opfer fällt. Von den wenigen Tieren, welche die Metamorphose überstehen, erweisen sich nur Ausnahmefälle auch weiterhin als ebenso vital wie die Kontrollen. Je nach der „Individualität" (im Sinne Loebs) der Partner führt die Krise rasch oder langsam zum Tode. Oft tritt dieser so schnell ein, dass Tiere am Morgen tot in der Schale liegen, die tags zuvor noch keinerlei Anzeichen irgendeiner Störung gezeigt hatten. In ungefähr zwei Dritteln aller Fälle kann jedoch eine mehr oder weniger starke Beeinträchtigung der normalen Funktionen beobachtet werden. Meist sind es Lähmungen, oft nur lokaler Natur; dann führen sie zu Gleichgewichtsstörungen. Vielfach aber ist der ganze Organismus gelähmt. Die Larven liegen leblos in der Schale und reagieren nicht mehr auf mechanische Reizung. Ihr Herz

schlägt aber noch und das Blut fliesst bis in alle Extremitäten. Eine zweite Art der Schädigung, die entweder für sich allein auftritt oder mit einer partiellen oder totalen Lähmung verbunden sein kann, betrifft das Blutgefäss-System. Das Ausmass der Störung variiert zwischen der geringen Erweiterung einzelner peripherer Gefässe und dem Zirkulationsstillstand in ganzen Körperteilen. Folgen dieser Ausfälle sind bei einzelnen Chimären schon von blossem Auge als grössere oder kleinere Blutungen in Gehirn, Schnauze, Extremitäten oder Rumpf sichtbar. Die histologische Untersuchung der Schnitte bestätigt wohl die bereits festgestellten Blutungen, zeigt auch oft noch weitere Schädigugen des Kreislaufsystemes, gibt aber überraschenderweise keine Erklärung der Lähmungserscheinungen.

Humphrey und Burns (1939) haben Gonaden-Praeprimordien von *Amblystoma tigrinum*, bestehend aus Ursegmentstiel, anstossendem axialem und lateralem Mesoderm und bedeckendem Hautektoderm, auf *Amblystoma punctatum* übertragen. Auch hier übersteht die chimärische Verbindung Embryonal- und Larvalzeit ohne Störungen. Mit dem Herannahen der Metamorphose stellen sich die ersten Reaktionen ein. Blutergüsse und Zirkulationsstillstand in den Beinen führen rasch zur Nekrose und oft zum Verlust ganzer Glieder. Die Epidermis wuchert stark und schuppt sich an verschiedenen Körperstellen in einzelnen Zellen oder ganzen Massen ab. Die Haut des Implantates bleibt normal, die Ränder dagegen sind stark betroffen. Durchmesser und Durchlässigkeit vieler Gefässe werden verändert. Oft steht die Zirkulation in Zehen und Haut still, während das Herz noch immer arbeitet. In der Endphase der Reaktion erscheinen die Tiere für das unbewaffnete Auge leblos. Sie reagieren nicht mehr auf mechanische Reize, auch beim fixieren nicht. Unter dem Binokular können jedoch noch immer Herzschlag und Kreislauf beobachtet werden. Diese Endphase dauert meistens zwei bis drei Stunden, dann sterben fast alle Tiere. Auch bei einer parabiotischen Vereinigung der beiden Arten wurden Unverträglichkeitsreaktionen im *punctatum*-Partner ausgelöst. Sie ziehen wiederum vor allem Epidermis und Blutkreislauf in Mitleidenschaft.

Da bei parabiotischen Paaren der *tigrinum*- bis nach dem Tode des *punctatum*-Partners normal bleibt, scheint es wahrscheinlich, dass die Reaktion im letztern das Resultat einer toxischen Substanz

ist, die von ihrem *tigrinum*-Bildner freigelassen wird, sobald sich die Metamorphose nähert. Unterstützt wird diese Ansicht durch die Tatsache, dass bei Transplantation die aus dem *tigrinum*-Transplantat entstandenen Teile nicht betroffen sind. Dass das toxische Agens nicht direkt als ein Stoff übertragen wird, zeigt das Fehlen jeglicher spezieller Reaktion in der Umgebung der Kontaktzone, sowohl bei Transplantation als auch bei Parabiose. Dass das Gift andererseits nicht im umgebenden Medium angehäuft wird, kann man dadurch beweisen, dass häufiger Wechsel in frisches Wasser den Gang der Reaktionen in keiner Weise hemmt. Es scheint deshalb wahrscheinlich, dass das Agens irgendeine im Blut entstandene Substanz ist. Die Frage, ob diese Substanz charakteristisch für alle *tigrinum*-Gewebe oder ein Gift mit lokaler Entstehung, das Produkt eines bestimmten Organs oder Gewebes sei, muss zweifellos zugunsten der zweiten Möglichkeit beantwortet werden. Auf Grund früherer Experimente (z. B. Harrison, 1933/34) kann nämlich eine ganze Reihe von Organen und Geweben, zum Beispiel Gonaden, Leber, Pankreas, Milz, Thyreoidea, Herzmuskel usw. als mögliche Giftquelle eliminiert werden.

Es ist nun Humphrey und Burns gelungen, die Reaktion durch intraperitoneale Implantation von *tigrinum*-Hautstücken in normale *punctatum*-Larven herbeizuführen. Die Giftdrüsen sind bei diesen Hautstücken bereits gut ausdifferenziert und offensichtlich funktionstüchtig. Die gutbekannte Giftwirkung der Hautdrüsen verschiedener Amphibien (Noble, 1931) lässt die Möglichkeit vermuten, dass diese Drüsen für die Reaktion verantwortlich gemacht werden müssen. Es sind deshalb Experimente mit Hautsekreten adulter *tigrinum*-Individuen durchgeführt worden, wobei man die *punctatum*-Testtiere entweder in Lösungen eingetaucht, solche injiziert oder ein kleines Stückchen getrocknetes Sekret in die Leibeshöhle gebracht hat. Die *punctatum*-Larven reagieren wohl ähnlich wie bei Transplantation oder Parabiose, doch haben die Hautsekrete nie alle Reaktionssymptome hervorrufen können. Die exakte Natur des toxischen Stoffes ist also auch damit nicht definitiv festgestellt; man ist aber heute in der Lage, die Unverträglichkeitsreaktionen bei Parabiose und Transplantation einer Substanz aus der Haut zuzuschreiben, die vom Blut transportiert wird und durch ihre Wirkung auf das cardiovaskuläre System den letalen Effekt hervorruft.

Bei den früher erwähnten Chimären von STONE (1934) hätte nach den obenstehenden Resultaten eigentlich Unverträglichkeit auftreten sollen. STONE selbst schreibt davon in seiner Arbeit nichts, doch berichten HUMPHREY und BURNS nach Befragung STONES über die auch hier zu beobachtenden Reaktionen. Es sind die selben Störungen wie bei parabiotischer Kombination oder Transplantation, die sich aber in der Regel erst zwei bis vier Wochen nach der Metamorphose einstellen. Alle Symptome sind dabei auf den *punctatum*-Teil beschränkt!

Die Ergebnisse der erwähnten Arbeiten decken sich also mit den unsrigen in Bezug auf die betroffenen Systeme sehr gut. Dass die Epidermis in unsern Experimenten keinen Schaden leidet, darf wohl als unwesentliche Differenz betrachtet werden. Demgegenüber steht eine grosse Abweichung in der Ausdehnung der Schädigungen. Sowohl bei Transplantation als auch bei parabiotischer oder chimärischer Verbindung wird dort nur der *punctatum*-Partner geschädigt. Wie wir gesehen haben, sind bei unsern Chimären Gefässerweiterungen, Zirkulationsstillstand und Blutungen überall im Körper aufgetreten; sowohl in reinen *alpestris*- als auch in reinen *palmatus*-Körperteilen. Wie bereits gesagt, hat STONE (1934) in seiner eigenen Arbeit nichts von der Unverträglichkeitsreaktion geschrieben. Erst nach späterer Befragung durch HUMPHREY und BURNS gibt er über ihr Auftreten Auskunft. Ist es da nicht möglich, dass ihm bei den Experimenten Reaktionen in *tigrinum*-Teilen, wenn sie vielleicht nur schwach sind, entgangen sein können? Dass beispielsweise nur das schwerer zu beobachtende Blutgefässsystem betroffen ist, die auffallenden Epidermisveränderungen aber fehlen?

Eine zweite kritische Bemerkung sei mir auch zur Arbeit von HUMPHREY und BURNS (1939) gestattet: Das *tigrinum*-Transplantat liefert ja nicht nur einen Teil der Körperwandung, sondern oft auch Extremitäten. Wenn nun die Lähmung eine wirklich vollständige ist, die Tiere auch bei der Fixierung nicht mehr reagieren, wie von ihnen angegeben wird, sind dann nicht auch *tigrinum*-Teile mitbetroffen, entsprechend den *alpestris*-Bezirken in unsern Experimenten?

Berücksichtigen wir diese beiden kritischen Einwände sowie die sicher recht verschiedenen Bedingungen zwischen blosser Transplantation und chimärischer Kombination ganzer Körperhälften,

dann dürfen wir wohl annehmen, dass es sich hier im Wesentlichen um die gleichen Vorgänge handelt. Die Annahme, dass auch in unsern Experimenten das toxische Agens in der Haut gebildet wird, erhält überdies Unterstützung durch das Fehlen einer deutlichen Reaktion bei a/p Dorsoventralchimären. In dieser Kombination erweist sich bekanntlich der dorsale Partner als der „dominante", d. h. er bestimmt Körpergrösse, Zeichnung und Zeit der Metamorphose. Der Grossteil der Haut stammt jedoch vom ventralen Partner. Auf Grund der Parabiose-Resultate HADORNS (unveröffentlicht) darf angenommen werden, dass *alpestris*-Haut auf einen *palmatus*-Organismus eine starke Giftwirkung ausübt, umgekehrt aber der *alpestris* durch den *palmatus* nur wenig oder gar nicht betroffen wird. In der dorsoventralen Verbindung müssten demnach wohl die p/a Chimären Unverträglichkeit zeigen (sehr viel a-Haut auf einem mehrheitlich die p-Merkmale tragenden Körper), nicht oder nur schwach dagegen die a/p Larven. Dass dies tatsächlich weitgehend zutrifft, haben wir bei der Besprechung der Dorsoventralchimären gesehen.

Die Wirkungsweise des Giftes und die Entstehung der verschiedenartigen Schädigungen kann bis heute nicht mit Sicherheit erklärt werden. Die grossen Blutungen müssen zweifellos durch direkten Blutaustritt aus den Gefässen entstanden sein. Die kleinen, zum Teil fast punktförmigen, sind möglicherweise Diapedeseblutungen, wie sie bei Einwirkung von chemischen Toxinen wie Phosphor, Arsen oder bei Knollenblätterpilz-Vergiftung (HAMPERL, 1944) bekannt sind. Diapedeseblutung hängt zunächst von einer Strömungsverlangsamung in den Kapillaren ab (Zehen, Zentralnervensystem !). Stase wird aber meist durch chemische Gifte, aber zum Beispiel auch durch thermische Reize (Temperaturversuche !) ausgelöst. Im prästatischen Zustand wird die Gefässwand mehr oder weniger stark verändert. Die Gefässlichtung erweitert sich, die Wandung wird gedehnt, sodass sich Stomata (feinste Öffnungen in der Kittsubstanz zwischen den Endothelzellen) bilden können oder vorhandene erweitert werden (HAMPERL, 1944).

NOBLE (1931) schreibt über die Giftdrüsen der Adulttiere, dass ihr Toxin eine ähnliche Wirkung wie Digitalis ausübe, also eine Verstärkung des Herztonus bewirke, die eventuell zum Herzstillstand führt. Krötengift verursacht bei höhern Tieren Übelkeit, Atemschwäche und Muskellähmung ! Ein weiterer Faktor, den wir

sicher nicht unberücksichtigt lassen dürfen, ist die Zusammensetzung der grossen Blutergüsse. Während man bei Reaktionen des Wirtes gegenüber heteroplastischen Transplantaten (Schwind, 1937, Horowitz, 1937, Harris, 1941, 1945 u. a.) sonst meistens in der Umgebung des Transplantates oder in allfällig auftretenden Blutungen Lymphocyten oder polymorphkernige Leukocyten beobachtet, bleibt hier das Verhältnis der einzelnen Blutzellen-Sorten dasselbe wie in den Gefässen. Die Blutung ist demnach das Resultat einer Schädigung des Kreislaufsystems selbst und nicht die Folge einer lokalen Reaktion. Sie kann deshalb sowohl *alpestris*- als auch *palmatus*-Körperteile betreffen.

Abschliessend kann also festgestellt werden: Wir haben es im vorliegenden Falle mit einer Unverträglichkeit bei heteroplastischer Kombination zu tun, bei der durch einen wohl nur in der *alpestris*-Haut entstandenen Stoff, der für die *palmatus*-Teile als Gift wirkt, der chimärische Organismus als Gesamtheit so stark betroffen wird, dass er in den meisten Fällen zugrunde geht. Das Toxin greift derart tief in die Lebensprozesse des Tieres ein, dass nicht nur ein Teil der p-Hälfte, sondern in vielen Fällen die ganze Larve vollständig gelähmt wird. Eine weitere Störung kann im Kreislaufsystem beobachtet werden. Sie führt zu schwerwiegenden Ausfällen oder Stauungen, die oft mit kleinern oder grössern Blutungen in verschiedenen Körperabschnitten verbunden sind. Die Lokalisation der Blutung gestattet jedoch keinen Schluss auf den Ort der zuerst aufgetretenen Störung. Das Zentralnervensystem ist gegenüber Ausfällen in der normalen Blutversorgung ausserordentlich empfindlich. Seine Zellen erleiden schon nach kurzer Zeit irreparable Schädigungen in der ähnlichen Art wie sie postmortal auftreten, wenn zwischen Tod und Fixierung eine gewisse Zeit verstreicht. Die Kerndegenerationen im Gehirn fassen wir aber nicht als unmittelbare Wirkungen der Unverträglichkeit, sondern als Folgeerscheinungen des Partialtodes eines einzelnen Organs im chimärischen Organismus auf, während dieser selbst, als Ganzes genommen, noch lebt.

## VI. ZUSAMMENFASSUNG

1. Zwischen *Triton alpestris* (Symbol a) und *Triton palmatus* (Symbol p) wurden Chimären in der Weise hergestellt, dass nach der Gastrulation Keimhälften zu einem Ganzkeim vereinigt wurden. Die Kombination besteht entweder aus artverschiedenen Vorder- und Hinterhälften (Querchimären a-p oder reziprok p-a) oder Rücken- und Bauchhälften (Dorsoventralchimären a/p oder reziprok p/a).

2. Die Embryonalentwicklung verläuft ohne störende Reaktion zwischen beiden Partnern. Bei sorgfältiger und möglichst steriler Arbeit kommen etwa 20% der operierten Tiere zum Fressen.

3. Auch während des grössten Teils der Larvalzeit treten keine Störungen ein. Bei den Querchimären entwickeln sich Vorder- und Hinterteil im wesentlichen artgemäss, d. h. unbeeinflusst durch die artfremde Körperhälfte. Dies betrifft sowohl die Ausbildung des Zeichnungsmusters der Adulttiere als auch die absoluten Masse der einzelnen Körperteile. Das gegenüber den Kontrolltieren deutlich veränderte Verhältnis zwischen Kopf und Rumpf bleibt bestehen. Die für Rumpflänge und Kopfbreite aufgestellten Kurven wurden statistisch geprüft. Es zeigte sich, dass die für die Chimären erhaltenen Masse fast durchwegs in die Variationsbreite der Kontrolltiere fallen.

Bei den Dorsoventraltieren erweist sich der dorsale Partner als „dominant". Er bestimmt Grösse, Zeichnung und Zeitpunkt der Metamorphose. Bei den Querchimären ist für das Metamorphosealter der Kopfteil entscheidend (Hypophyse-Schilddrüse).

4. Kurze Zeit vor dem Erreichen des Metamorphosealters stellen sich bei den meisten Chimären Unverträglichkeitsreaktionen ein, die in der Mehrzahl der Fälle zum Tode führen. Nur wenige Tiere überstehen die Metamorphose.

5. Die Unverträglichkeitsreaktionen sind nicht bei allen Tieren schon äusserlich sichtbar. Bei der Mehrzahl jedoch können Lähmungserscheinungen und Störungen des Blutkreislaufes beobachtet werden. Die Lähmungen variieren zwischen blossen Gleichgewichts-

störungen beim Schwimmen einerseits und einer vollständigen Bewegungslosigkeit andererseits. Die Schädigung des Blutkreislaufes äussert sich bei schwach betroffenen Tieren in blosser Gefässerweiterung. Bei einigen sind aber ausserordentlich starke Blutungen, vor allem im Kopf, aufgetreten.

6. Die histologische Prüfung bestätigt die äusserlich festgestellten Blutungen und zeigt oft auch noch weitere Störungen des Kreislaufes. Sie gibt aber keine Anhaltspunkte über die Ursache der Lähmungen.

7. Der vermutete ungünstige Einfluss höherer Aussentemperatur sollte durch Temperaturexperimente geprüft werden. Diese verliefen bei p-a Chimären durchwegs negativ, während die vier geprüften a-p Tiere bei 28 Grad schon innerhalb eines Tages starben. Die geringe Zahl von Versuchstieren gestattet aber keinen definitiven Schluss, da auch von den unoperierten Kontrollen einige im Thermostat zugrunde gingen.

8. Bei den Dorsoventralchimären tritt ebenfalls eine Unverträglichkeitskrise mit den gleichen Symptomen ein, doch scheint sie nur die p/a Kombination stark zu treffen. Bei den a/p Tieren kann keine eigentliche kritische Zeit beobachtet werden.

9. Die von Hadorn (1945) für die Lähmungserscheinungen verantwortlich gemachten Pyknosen im Zentralnervensystem treten erst nach Aufhören der normalen Blutversorgung auf. Sie stehen kaum in direktem Zusammenhang mit der Lähmung, denn sie können bei vollständig gelähmten Tieren fehlen, deren Kreislauf noch ungestört funktioniert.

10. Der Vergleich mit den Resultaten von Humphrey und Burns (1939) sowie Stone (1934) weist darauf hin, dass wir es in der vorliegenden Arbeit wahrscheinlich mit einer toxischen Substanz zu tun haben, die in der Haut von *Triton alpestris* gebildet wird und die Störungen verursacht. Die spezielle Wirkungsweise konnte jedoch nicht erkannt werden, ebenso der Grund, weshalb Schädigungen in der Parabiose (Hadorn, unveröffentlicht) in erster Linie den p-Partner, bei den Chimären aber den ganzen Organismus treffen. Die Annahme eines *alpestris*-Hauttoxins vermag aber das Fehlen einer deutlichen Reaktion bei den dorsoventralen

a/p Chimären zu erklären, da hier die empfindlich reagierenden Systeme (Zentralnervensystem, Zirkulationssystem) reine a-Teile sind und der p-Keim fast nur das Haut-Ektoderm liefert, während im Gegenexperiment p/a der mehrheitlich die p-Merkmale tragende und aus p-Geweben bestehende Körper von einer ihn schädigenden a-Epidermis umhüllt wird.

## VII. LITERATURVERZEICHNIS


1945. Andres, G. *Über die Entwicklung des Anurenlabyrinthes in Urodelen (Xenoplastischer Austausch zwischen Bombinator und Triton alpestris).* Rev. suisse Zool., **52.**

1946. —— *Über Induktion und Entwicklung von Kopforganen aus Unkenektoderm im Molch (Epidermis, Plakoden und Derivate der Neuralleiste).* Rev. suisse Zool., **52.**

1940. Baltzer, F. *Über erbliche letale Entwicklung und Austauschbarkeit artverschiedener Kerne bei Bastarden.* Die Naturwissenschaften, **28.**

1928. Burns jr., Robert K. and Moore Burns, Lucile. *The growth of the whole organism and of the limbs in two species of Amblystoma united in parabiosis.* J. Exp. Zool., **53.**

1937. Cotronei, Giulio und Perri, Teodoro. *Ricerche sulle compatibilità ed incompatibilità embrionali negli Anfibi studiate con il metodo degli espianti.* Arch. zool. ital., **24.**

1947. Fischberg, M. *Experimentelle Auslösung von haploider und diploider Parthenogenese bei den Urodelen Triton palmatus und Triton alpestris.* Arch. Jul. Klaus-Stift., **22.**

1931. Glücksohn, Salome. *Äussere Entwicklung der Extremitäten und Stadieneinteilung der Larvenperiode von Triton taeniatus* Leyd. *und Triton cristatus* Laur. Roux' Arch., **125.**

1914. Goeldi, E. A. *Die Tierwelt der Schweiz.* Bern.

1929. Hadley, Charles E. *The compatibility of skin of Rana pipiens and Rana clamitans as tested by transplantation.* J. Exp. Zool., **54.**

1936. Hadorn, Ernst. *Übertragung von Artmerkmalen durch das entkernte Eiplasma beim merogonischen Triton-Bastard palmatus-Plasma x cristatus-Kern.* Verh. d. Deutschen Zool. Ges., **36.**

1945*a* —— *Entwicklungsleistungen und Unverträglichkeitsreaktionen bei Artchimären von Triton.* Rev. suisse Zool., **52.**

1945*b* —— *Beitrag zur Entstehung der Mikrophthalmie.* Arch. Jul. Klaus-Stift., **20.**

1944. Hamperl, Herwig. *Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie.* Berlin, Springer-Verlag.

1941. Harris, Morgan. *The establishment of tissue specifity in tadpoles of Hyla regilla.* J. Exp. Zool., **88.**

1945. —— and Eakin, Richard M. *Incompatibility between amphibian hosts and xenoplastic grafts as related to host age.* J. Exp. Zool., **98/99.**

1924. Harrison, Ross G. *Some unexpected results of the heteroplastic transplantation of limbs.* Proc. Nat. Ac. Sci.

1933/34. —— *Heteroplastic grafting in embryology.* The Harvey Lectures.

1939. Hitchcock, Harold Bradford. *The behavior of adult amphibian skin cultured in vivo and in vitro.* J. Exp. Zool., **81.**

1937. Horowitz, Norman H. *Tissue reaction to the transplantation of muscle in the urodele, Triturus viridescens viridescens.* J. Exp. Zool., **76.**

1939. Humphrey, R. R. and Burns jr., R. K. *An incompatibility manifested in heteroplastic parabiosis or grafting in Amblystoma due to a toxin of cutaneous origin.* J. Exp. Zool., **81.**

1945. Linder, A. *Statistische Methoden für Naturwissenschafter, Mediziner und Ingenieure.* Verlag Birkhäuser, Basel.

1937. Loeb, Leo. *The biological basis of individuality.* Science, **86.**

1931. Noble, G. K. *The biology of the Amphibia.* Mc Graw-Hill.

1932. Perri, Teodoro. *Sul comportamento dell'abbozzo oculare di Tritone trapiantato in embrioni di Rana esculenta. Processi distruttivi e potenza di ricupero.* Roux' Arch., **126.**

1939. Reverberi, G. *Il comportamento dell'abbozzo caudale degli Anfibi nei trapianti etero- e xenoplastici.* Arch. zool. ital., **26.**

1945. Roth, H. *Chimärische Neuralsysteme (Transplantation zwischen Triton alpestris und Bombinator pachypus).* Arch. Jul. Klaus-Stift., **20.**

1946. Rutz, H. *Die Amphibien der Umgebung von Zürich.* Vierteljahresschrift Naturforsch. Ges. Zürich, **91.**

1937. Schwind, Joseph L. *Tissue reactions after homoplastic and heteroplastic transplantation of eyes in the Anuran Amphibia.* J. Exp. Zool., **77.**

1932. Spirito, Aldo. *Ricerche di innesti e di trapianto su parti embrionali isolate negli embrioni di anfibi.* Roux' Arch., **127.**

1934. Stone, L. S. *Production and metamorphosis of chimeras in Anurans and Urodeles.* Proc. Soc. Exp. Biol. Med., **31.**

1937. Twitty, Victor C. *Experiments on the phenomen of paralysis produced by a toxin occurring in Triturus embryos.* J. Exp. Zool., **76.**